

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

MISE AU POINT D'UNE MÉTHODE D'ANALYSE EN
FLUORESCENCE POUR LA DÉTERMINATION DU
BÉRYLLIUM DANS L'AIR EN MILIEU DE TRAVAIL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ COMME EXIGENCE
PARTIELLE DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE

PAR
MARIE-CLAUDE GIGUÈRE

AVRIL 2010

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Ce projet a été réalisé grâce à l'appui financier et scientifique de l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST). Le développement d'une méthode de fluorescence portable pour la détermination du béryllium s'inscrit dans le cadre de la mission de l'IRSST qui est d'offrir les services de laboratoires nécessaires à l'action du réseau public de prévention en santé et en sécurité du travail.

Je remercie monsieur Jacques Lesage, directeur du département d'expertise et service de laboratoire de l'IRSST, pour avoir permis au projet de se réaliser. Je remercie particulièrement la docteure Chantal Dion, chercheure en chimie à l'IRSST, et le docteur Huu Van Tra, professeur au département de chimie de l'Université du Québec à Montréal, en tant que co-directrice et directeur de mémoire pour leur encadrement. Je tiens aussi à remercier les gens du personnel de l'IRSST plus spécialement Pierre Larivière, professionnel scientifique, pour son aide et ses conseils ainsi que Pierre-Jean Desormeaux, technicien de laboratoire, pour son assistance au laboratoire. Je remercie également le docteur Livain Breau, professeur au département de chimie de l'Université du Québec à Montréal, pour son aide lors de la synthèse et la caractérisation du réactif ainsi que Phuong Nguyen, assistante de recherche du laboratoire de Huu Van Tra à l'Université du Québec à Montréal, pour son aide au laboratoire tout au long du projet.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	ii
LISTE DES TABLEAUX	vi
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES.....	xii
LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS	xv
RÉSUMÉ.....	xvii
INTRODUCTION	1
1.1 Sources, propriétés et utilisations du béryllium	1
1.2 Effets sur la santé et réglementation.....	2
1.2.1 Effets sur la santé	2
1.2.2 Réglementation et situation québécoise	4
1.3 Méthodes actuellement utilisées pour l'analyse du béryllium.....	6
1.4 Problématique et objectifs	7
1.5 Spectrofluorométrie	7
1.5.1 Fluorescence moléculaire	7
1.5.2 La fluorescence et le béryllium	8
1.6 Critères généraux et spécifiques requis pour le développement de la méthode ..	10
1.6.1 Critères généraux.....	10
1.6.2 Critères spécifiques	11
CHAPITRE II	
MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	15
2.1 Produits chimiques.....	15
2.1.1 Santé et sécurité relativement à l'utilisation du Be et du NH_4HF_2	16
2.2 Instrumentation.....	17
2.3 Synthèse du HBQS	20
2.3.1 Caractérisation du HBQS synthétisé	21
2.4 Protocoles des méthodes analytiques.....	21

2.4.1 Nettoyage et décontamination de la verrerie.....	21
2.4.2 Préparation des solutions.....	22
2.4.3 Méthode de mesure de la fluorescence.....	23
2.4.4 Études spectrophotométriques.....	23
2.4.5 Comparaison des réactifs, des cuvettes et évaluation des fluorimètres portables.	25
2.4.6 Évaluation des interférences.....	26
2.4.7 Évaluation de la dissolution de poudre de BeO.....	29
2.5 Validation des méthodes analytiques.....	32
2.5.1 Description des méthodes validées.....	33
2.5.2 Évaluation de la réplicabilité.....	33
2.5.3 Évaluation de la répétabilité.....	34
2.5.4 Évaluation de la limite de détection méthodologique.....	36
2.5.5 La sensibilité.....	36
 CHAPITRE III	
RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.....	37
3.1 Synthèse et caractérisation du HBQS.....	37
3.1.1 Caractérisation RMN ¹ H.....	37
3.1.2 Caractérisation IR.....	41
3.2 Propriétés spectroscopiques des chromophores.....	44
3.2.1 Stabilité du chromophore HBQS.....	50
3.2.3 Fluorescence du complexe Be-HBQS.....	52
3.2.4 Effet du pH.....	59
3.3 Comparaison des réactifs, des cuvettes et des systèmes optiques.....	62
3.3.1 Comparaison entre le réactif commercial et synthétisé.....	62
3.3.2 Comparaison de différentes cuvettes de fluorescence.....	63
3.3.3 Évaluation des fluorimètres portables.....	64
3.4 Évaluation des interférences.....	71
3.4.1 Interférences spectrophotométriques.....	71
3.4.2 Interférences multi-élémentaires.....	77
3.4.3 Impact de la présence d'ions métalliques sur la quantification du Be.....	84
3.4.4. Interférence sur l'ICP-MS.....	86
3.5 Essais de dissolution du BeO.....	88

3.5.1 Dissolution alcaline	90
3.5.2 Dissolution acide	92
3.5.3 Dissolution au NH_4HF_2 1%	100
3.5.4. Comparaison des récupérations entre la méthode en fluorescence et la méthode IRSST 359 (ICP-MS)	104
3.6 Validation de la méthode de fluorescence	106
3.6.1 Évaluation de la répétabilité et de la répliquabilité	106
3.6.2 Évaluation de la limite de détection et de quantification.....	107
CONCLUSION.....	110
PERSPECTIVES.....	112
APPENDICE A.....	113
BIBLIOGRAPHIE.....	117

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1: Présentation des principaux alliages de béryllium (WHO, 1990).	2
Tableau 1.2: Méthodes standards disponibles pour le dosage du béryllium dans l'air en milieu de travail.....	6
Tableau 1.3: Présentation de chromophores pour l'analyse du Be en fluorescence.....	9
Tableau 2.1: Conditions chromatographiques utilisés pour l'analyse du H-Resorcinol. ..	17
Tableau 2.2: Paramètres de mesure sur le Hitachi F-2000.....	18
Tableau 2.3: Paramètres des systèmes optiques du Modulus.....	19
Tableau 2.4: Paramètres de l'ICP-MS.	19
Tableau 2.5: Détails des conditions de réaction de sulfonation.	21
Tableau 2.6: Préparation des solutions standards de Be.....	22
Tableau 2.7: Composition volumique des métaux et du Be dans les solutions pour les tests d'interférences spectrophotométriques..	27
Tableau 2.8: Constitution des solutions d'ions multi-élémentaire pour les tests d'interférences.	28
Tableau 2.9: Composition volumique des métaux et du Be dans les solutions pour les tests d'interférences spectrophotométriques.	28
Tableau 2.10: Quantité de BeO dans les suspensions utilisées.	30
Tableau 2.11: Paramètres des différents essais d'extraction du Be réalisés.	31
Tableau 2.12: Niveaux de concentrations évalués pour la réplicabilité.	33
Tableau 3.1: Description détaillée du spectre RMN ¹ H du HBQS de la 1 ^{ère} synthèse et comparaison avec les valeurs de la littérature (McCleskey et al., 2006).....	38
Tableau 3.2: Excès molaire des concentrations d'interférents par rapport à la concentration de Be (0,22 µM).	73
Tableau 3.3: Pourcentage d'écart à l'intensité de fluorescence du Be-HBQS et du HBQS dû à la présence d'un métal à 400 µM dans la solution aux temps 0 et 120 minutes.	76

Tableau 3.4: Excès molaire en ions et concentration individuelle des ions dans les solutions multi-16.....	78
Tableau 3.5: Comparaison des pourcentages d'écart au Be-HBQS du multi-5 et du multi-16.....	83
Tableau 3.6: Concentration totale des interférents des solutions mesurées.	84
Tableau 3.7 : Paramètres des droites d'étalonnage présentées à la figure 3.39.....	90
Tableau 3.8: Pourcentages d'écart entre le signal de blancs de dissolution enrichis en Be et des solutions étalons de Be à différentes concentrations de HNO ₃	94
Tableau 3.9 : Moyenne des masses récupérées et des taux de récupérations obtenus avec des étalonnages dans 1 % HNO ₃ et 5 % HNO ₃	98
Tableau 3.10: Variation de l'intensité de blancs enrichis en Be par rapport à des solutions étalons de Be.	99
Tableau 3.11: Différence des intensités de fluorescence pour des solutions de Be de basses concentrations diluées dans 1 % et 5 % de HNO ₃	99
Tableau 3.12 : Évaluation de la récupération du Be après différentes durées de dissolution dans le 1 % NH ₄ HF ₂	101
Tableau 3.13 : Présentation des masses moyennes et de la récupération moyenne obtenues lors des dissolutions au NH ₄ HF ₂ 1% pour des basses teneurs en Be.....	102
Tableau 3.14: Quantités de Be récupérées par différentes méthodes de dissolution du BeO et comparaison entre l'analyse en ICP-MS et en fluorescence.	105
Tableau 3.15: Évaluation de la réplicabilité et de la répétabilité pour les deux méthodes.	107
Tableau 3.16: Limite de détection et de quantification pour le dosage du Be en fluorescence avec le HBQS.....	108
Tableau 3.17: Comparaison des limites de détection de cette méthode avec la méthode de l'IRSST et une méthode similaire en fluorescence.	108
Tableau A.1 : Données du spectre RMN ¹ H du 10-hydroxybenzo[h]quinoline-9-sulfonate tirées du spectre du 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7sulfonate.....	114
Tableau A.2 : Données du spectre RMN ¹ H du 10-hydroxybenzo[h]quinoline.....	115

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: Complexation du Be par le HBQS.....	12
Figure 1.2: Complexation du Be par le H-Resorcinol.....	12
Figure 1.3: Complexation du Be par le HPHBQ.....	13
Figure 2.1: Réaction de sulfonation du HBQ.....	20
Figure 3.1: Agrandissements des spectres RMN ¹ H du HBQS de la 1 ^{ère} synthèse en 1 et de la 2 ^e synthèse en 2.	39
Figure 3.2: Agrandissements des spectres RMN ¹ H du HBQS de la 1 ^{ère} synthèse en 1 et de la 2 ^e synthèse après 4h30 de réaction en 2.	41
Figure 3.3: Section du spectre infra-rouge entre 1260 et 1050 cm ⁻¹ du HBQS de la 1 ^{ère} synthèse (pastille de KBr).	42
Figure 3.4: Section du spectre infra-rouge entre 1260 et 1050 cm ⁻¹ du HBQS de la 2 ^e synthèse (pastille de KBr).	42
Figure 3.5: Trois sections du spectre infra-rouge entre 3600 et 3400, 1020-1000 et 670-640 cm ⁻¹ du HBQS (pastille de KBr).	43
Figure 3.6: Section du spectre infra-rouge entre 1640 et 1500 cm ⁻¹ du HBQS (pastille de KBr).....	43
Figure 3.7: Spectre d'excitation et d'émission du H-Resorcinol seul ou avec le Be (fluorimètre PerkinElmer).	44
Figure 3.8: Chromatogramme (HPLC-UV) du Be-Resorcinol à différentes concentrations de Be.....	45
Figure 3.9: Fluorescence du HBQS à différentes longueurs d'onde d'excitation (Hitachi F2000, λ_{em} =565 nm).....	46
Figure 3.10: Diagramme d'énergie du transfert de proton intramoléculaire à l'état excité du HBQ (tiré de Sytnik, Aleksandr et Michael Kasha. 1994. «Excited-state intramolecular proton transfer as a fluorescence probe protein binding-site static polarity». <i>Proceedings of the national academy of sciences</i> , vol. 91, p. 8627-8630).	47
Figure 3.11: Spectre d'émission du HBQS mesuré par deux fluorimètres.	48

Figure 3.12: Spectre de fluorescence du HBQS de la 1 ^{ère} et 2 ^e synthèse (Hitachi F2000, $\lambda_{ex}=365$ nm).....	49
Figure 3.13: Spectre d'émission d'une solution de HBQS mesurée à différents moments (Hitachi F2000, $\lambda_{ex}=365$ nm).	50
Figure 3.14: Variation de l'intensité d'émission en mesure continue du HBQS à une concentration de 56,4 μ M (Hitachi, $\lambda_{ex}=385$ nm et $\lambda_{em}=475$ nm).....	51
Figure 3.15: Intensité d'émission à $\lambda=563$ nm du HBQS à différentes concentrations (Hitachi, $\lambda_{ex}=365$ nm).....	52
Figure 3.16: Spectre d'excitation et d'émission du complexe de Be-HBQS avec [Be]=8ppb (Hitachi).	53
Figure 3.17: Fluorescence du complexe Be-HBQS (5 ppb) et du HBQS seul provenant des deux synthèses. (Hitachi, $\lambda_{ex}=385$ nm).	54
Figure 3.18: Courbe de fluorescence du complexe Be-HBQS à différentes concentrations (Hitachi, $\lambda_{ex}=385$ nm).	55
Figure 3.19: Courbe d'étalonnage du béryllium de 0 à 4 ppb.	56
Figure 3.20: Variation de l'intensité de fluorescence en fonction du temps de réaction de complexation pour différentes concentrations de Be (Hitachi ; $\lambda_{ex}=385$ nm et $\lambda_{em}=475$ nm).	57
Figure 3.21: Variation de l'intensité d'émission en mesure continue du Be-HBQS à une concentration de 20 ppb en 1 et du HBQS en 2 (Hitachi ; $\lambda_{ex}=385$ nm et $\lambda_{em}=475$ nm).	58
Figure 3.22: Variation de l'intensité de la fluorescence du HBQS et du complexe en fonction de la concentration de HNO_3 ajoutée à la solution de chromophore.....	60
Figure 3.23 : Variation de l'émission du HBQ selon l'acidité de la solution (tiré de Chou, Pi-Tai et Ching-Yen Wei. 1996. «Photophysics of 10-hydroxybenzo[h]quinoline in aqueous solution». <i>Journal of physical chemistry</i> , vol. 100, p. 17059-17066.	61
Figure 3.24: Fluorescence du HBQS provenant de la solution de Berylliant et de la synthèse (USB4000, $\lambda_{ex}=380$ nm) et fluorescence du complexe, [Be]= 8 ppb avec les deux réactifs (Hitachi, $\lambda_{ex}=380$ nm).	63
Figure 3.25: Spectre de fluorescence du Be-HBQS à 20 ppb mesuré dans des cuvettes faites de différents matériaux (Hitachi, $\lambda_{ex}=385$ nm).....	64
Figure 3.26: Spectres de fluorescence du Be-HBQS (Hitachi et USB4000, $\lambda_{ex}=380$ nm).	65
Figure 3.27: Spectres de fluorescence de la quinine sulfate (Hitachi et USB4000, $\lambda_{ex}=380$ nm).	66

Figure 3.28: Agrandissement des spectres d'émission du HBQS et du Be-HBQS mesurés à deux longueurs d'onde d'excitation différentes. (Hitachi, Spectre 1 : $\lambda_{\text{ex}} = 385 \text{ nm}$ et Spectre 2 : $\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$).....	68
Figure 3.29 : Comparaison des systèmes optiques sur le Modulus pour le dosage du Be à différentes concentrations.....	70
Figure 3.30: Spectre de fluorescence de HBQS et de Be-HBQS en présence de différents métaux. $[\text{Be}]=[\text{M}]=0,75 \mu\text{M}$ (Hitachi, $\lambda_{\text{ex}}=385 \text{ nm}$).	72
Figure 3.31: Pourcentages de perte de signal de la fluorescence lors de l'ajout de métaux au complexe de Be-HBQS avec la méthode basse teneur. $[\text{Be}] = 2 \text{ ppb}$	74
Figure 3.32: Pourcentages de perte de signal de la fluorescence lors de l'ajout de métaux au complexe de Be-HBQS mesuré avec la méthode haute teneur. $[\text{Be}] = 2 \text{ ppb}$	75
Figure 3.33: Perte de signal du HBQS et du Be-HBQS dans les basses teneurs en présence de solutions multi-élémentaires à différentes concentrations.....	79
Figure 3.34: Perte de signal du HBQS et du Be-HBQS dans les hautes teneurs en présence de solutions multi-élémentaires à différentes concentrations.....	80
Figure 3.35: Effet des solutions multi-11 + M ($\text{M}=\text{Al}, \text{Cu}, \text{Cr}, \text{Fe}$ ou Ni) sur une solution de 2 ppb de Be dans les basses et hautes teneurs.	81
Figure 3.36: Impact de l'ajout de solutions multi-5 à différentes concentrations sur des solutions de Be-HBQS ou de HBQS dans les basses et hautes teneurs.	82
Figure 3.37: Dosage de solutions de Be dans les basses teneurs avec ou sans la présence de solutions multi-élémentaires. (Modulus, SO1).....	85
Figure 3.38: Dosage de solutions de Be dans les hautes teneurs avec ou sans la présence de solutions multi-élémentaires. (Modulus, SO1).....	86
Figure 3.39: Pourcentage d'écart à la concentration de Be attendue en fonction des interférents présents mesuré par ICP-MS.....	88
Figure 3.40: Étalonnage des hautes teneurs avec le NaOH 6N, HNO_3 1 % et NH_4HF_2 ...	89
Figure 3.41: Essais de dissolution du BeO avec le NaOH en variant la durée de chauffage, le volume de NaOH et la concentration de NaOH dans un bloc chauffant à 85°C	91
Figure 3.42: Pourcentage de récupération de Be ($5 \mu\text{g}$) selon le volume ajouté de H_2SO_4 concentré à 10 mL de HNO_3 1%.	93
Figure 3.43: Taux de récupération du Be pour différentes quantités de Be et différentes conditions de dissolution (composition du mélange acide; durée; température).....	95
Figure 3.44: Comparaison des pourcentages de récupération pour des solutions de BeO sans filtre et avec filtre.	96

Figure 3.45 : Comparaison des récupérations sans la présence d'un filtre, avec filtre et avec un Ghost WipeTM. (10 mL 1 % HNO₃ et 0,5 mL H₂SO₄ concentré, 1h, 85°C)..... 97

Figure 3.46: Corrélation de la masse de Be entre les moyennes des mesures et les masses attendues pour des basses teneurs de Be avec une dissolution au NH₄HF₂. (Bloc chauffant, 35 minutes, 85°C)..... 102

Figure 3.47: Pourcentage de récupération du Be lors de la dissolution sans chauffage à l'aide du 1 % NH₄HF₂..... 103

Figure A.3 : Agrandissement du spectre RMN¹H du HBQ..... 116

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

ACGIH	<i>American conference of governmental industrial hygienists</i>
Al	Aluminium
AQHSST	<i>Association québécoise pour l'hygiène, la santé et la sécurité du travail</i>
ASTM	<i>American society for testing and material</i>
Ba	Baryum
BC	Béryllose chronique
Be	Béryllium
BeLPT	Test de prolifération lymphocytaire au béryllium
BeO	Oxyde de béryllium
BeS	Sensibilisation au béryllium
C1	Cancérogène démontré chez l'humain
Ca	Calcium
CCM	Chromatographie sur couche mince
Cd	Cadmium
CDCl ₃	Chloroforme deutéré
CEAEQ	<i>Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec</i>
Co	Cobalt
Cr	Chrome
CSST	<i>Commission de la santé et de la sécurité du travail</i>
DEL	Diode électroluminescente (LED)
DMSO _d ⁶	Diméthylsulfoxyde deutéré
ECM	Esters de cellulose mélangés
EDTA	Acide diammonium éthylènediaminetétraacétique
EM	Exposition réduite au minimum
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
ESIPT	Excited-state intramolecular proton transfer
EtOH	Éthanol
F	Fluor
Fe	Fer
HBQS	10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate
HCl	Acide chlorhydrique
HClO ₄	Acide perchlorique
HEPA	Filtre à air haute efficacité pour les particules
HNAAQ	2-hydroxy-1-naphtaldehydène-8-aminoquinoline
HNO ₃	Acide nitrique

H ₂ O	Eau
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HOMO	Higher occupied molecular orbital
HPHBQ	2-(2'-hydroxyphényl)-10-hydroxybenzo[h]quinoline
HPLC	High-performance liquid chromatography
H-Resorcinol	1-(2,4-dihydroxy-1-phénylazo)-8-hydroxy-3,6-naphtalènedisulfonate
HSE	<i>Health and safety executive (Royaume-Uni)</i>
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
IARC	<i>International agency for research on cancer</i>
ICP-AES	Plasma à couplage inductif couplé à la spectroscopie d'émission atomique
ICP-MS	Plasma à couplage inductif couplé à un spectromètre de masse
INRS	<i>Institut national de recherche et de sécurité (France)</i>
IR	Spectroscopie infra-rouge
IRSST	<i>Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail</i>
K	Potassium
LANL	<i>Los Alamos national laboratory</i>
LDM	Limite de détection méthodologique
LQM	Limite de quantification méthodologique
LUMO	Lowest unoccupied molecular orbital
m	Pente de la droite d'étalonnage (sensibilité)
Mg	Magnésium
Mn	Manganèse
N	Azote
Na	Sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
Nd	Non disponible
NH ₄ HF ₂	Bifluorure d'ammonium
Ni	Nickel
NIOSH	<i>National Institute for Occupational Safety and Health</i>
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
NO _x	Oxyde d'azote
O	Oxygène
OSHA	<i>Occupational Safety and Health Administration</i>
Pb	Plomb
PMMA	Polyméthylmétacrylate
PS	Polystyrène
R	Ratio de conformité
R ²	Coefficient de corrélation
Reptox	<i>Service du répertoire toxicologique de la CSST</i>
RF	Radio-fréquence
RMN ¹ H	Résonance magnétique nucléaire du proton

RP	Recirculation prohibée
RSST	<i>Règlement sur la santé et la sécurité du travail</i>
S	Risque de sensibilisation
Sn	Étain
SO1	Système optique #1 (λ_{ex} = 365 nm et λ_{em} = 475-485 nm)
SO2	Système optique #2 (λ_{ex} = 385 nm et λ_{em} = 468-475 nm)
U	Uranium
V	Vanadium
VEMP	Valeur d'exposition moyenne pondérée
VMR	Valeur minimale rapportée
W	Tungstène
WHO	<i>World Health Organization</i>
Zn	Zinc

LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

°C	Degré Celsius
cm ⁻¹	Nombre d'ondes
g	Gramme
mg	Milligramme, soit 10 ⁻³ g
µg	Microgramme, soit 10 ⁻⁶ g
ng	Nanogramme, soit 10 ⁻⁹ g
pg	Picogramme, soit 10 ⁻¹² g
kg	Kilogramme, soit 10 ³ g
h	Heure
kJ	Kilojoule, soit 10 ³ J
L	Litre
mL	Millilitre, soit 10 ⁻³ L
m	Mètre
m ³	Mètre cube
µm	Micromètre, soit 10 ⁻⁶ m
mM	Millimole, soit 10 ⁻³ mole
µM	Micromole, soit 10 ⁻⁶ mole
MHz	Mégahertz, soit 10 ⁶ Hertz
min	Minute
mol	Mole
m/v	Masse par volume
N	Normal ou équivalent/L
nm	nanomètre, soit 10 ⁻⁹ m
ppb	Partie par milliard ou µg/L
ppm	Partie par million ou mg/L
s	Seconde
ua	Unité arbitraire
v/v	Volume par volume
V	Volt
W	Watt

%	Pourcentage
λ_{em}	Longueur d'onde d'émission (en nanomètre : nm)
λ_{ex}	Longueur d'onde d'excitation (en nanomètre : nm)

RÉSUMÉ

Le béryllium (Be) est rencontré lors de multiples usages industriels grâce à ses propriétés uniques, toutefois il représente un risque pour la santé des travailleurs qui y sont exposés. La béryllose chronique est une maladie professionnelle liée à l'exposition au Be. La norme québécoise de $0,15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de Be dans l'air pour une valeur d'exposition moyenne pondérée, nécessite l'utilisation d'une méthode analytique ayant une faible limite de détection. L'IRSST utilise déjà une méthode permettant d'atteindre une telle limite. Toutefois, la méthode est réalisée à l'aide d'un ICP-MS, un appareil coûteux et peu disponible. Afin de rendre accessible une méthode pouvant être implantée dans les milieux de travail où les contrôles sur la présence de béryllium sont fréquents, la technique de fluorescence moléculaire a été envisagée. La fluorescence est une technique très sensible et des appareils portables sont disponibles commercialement. La détermination du béryllium en fluorescence par la formation d'un complexe avec le 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate a permis d'atteindre une limite de détection aussi basse que $0,0002 \mu\text{g}/\text{échantillon}$. Les coefficients de variation de moins de 4 % obtenus pour la réplicabilité et la répétabilité de cette méthode assurent une bonne précision des résultats. De plus, cette méthode rencontre peu d'interférences à l'exception du fer. La dissolution de l'oxyde de béryllium, une espèce pratiquement insoluble, avec le 1% NH_4HF_2 a permis d'atteindre des taux de récupération de près de 96 %. Le NH_4HF_2 est également compatible avec le réactif. La méthode d'analyse en fluorescence pour la détermination du béryllium est applicable à la méthode d'échantillonnage dans l'air actuellement utilisée par l'IRSST.

Mots clés : béryllium, fluorescence, 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate, ultra-trace, dissolution.

INTRODUCTION

1.1 Sources, propriétés et utilisations du béryllium

Le béryllium (Be) est présent naturellement dans la croûte terrestre. Il est retrouvé dans les minerais de beryl ($\text{Be} > 4\%$) et de bertrandite ($\text{Be} < 1\%$) qui sont exploités pour le Be au Brésil, en URSS et aux États-Unis. D'autres minerais comme le phénacite (présent au Canada) et le chrysobéryl sont à l'étude pour leur rentabilité commerciale. L'activité volcanique est une source naturelle de libération de Be dans l'atmosphère (Kolanz, 2001). Les sources de Be peuvent être également anthropogéniques. Celles-ci sont principalement associées aux activités industrielles et sont la cause la plus importante de relargage de Be dans l'environnement. La combustion de charbon et d'huile, l'enfouissement de déchets, et les rejets d'eaux usées en sont des exemples. On retrouve donc du Be dans les aliments et l'eau que l'on ingère et de façon très négligeable dans l'air que l'on respire (Kolanz, 2001). La cigarette peut en contenir jusqu'à $0,74 \mu\text{g/cigarette}$ dont environ 10% se retrouve dans la fumée (WHO, 2001).

Avant les années 50, le Be était un élément peu exploité. Son utilisation a connu un essor suite à la deuxième guerre mondiale. Ses caractéristiques chimiques uniques, notamment sa légèreté, sa chaleur spécifique, sa température de fusion, sa perméabilité aux rayons-X, son amagnétisme et sa résistance spécifique élevée, ont accru considérablement la demande pour des matériaux constitués de Be. En effet, sa présence dans les alliages ou les céramiques leur confèrent des propriétés améliorées comme une meilleure conductivité thermique et électrique, une plus grande dureté et légèreté, une meilleure résistance à la corrosion et à la fatigue (INRS, 2006 ; WHO, 1990). C'est ainsi que le béryllium s'est retrouvé dans une multitude de secteurs industriels. Les alliages les plus courants sont présentés dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1: Présentation des principaux alliages de béryllium (WHO, 1990).

Alliage	Proportion	Secteurs
Béryllium-Cuivre	< 2% Be	Aérospatiale, électronique
Béryllium-Aluminium	62% Be	Aérospatiale, aéronautique
Béryllium-Nickel	2-3% Be	Aérospatiale, électronique
Béryllium-nickel-chrome	< 2%	Dentisterie
Béryllium-cobalt-cuivre	nd ^a	Électronique
Béryllium-fer	nd ^a	Nucléaire

^and : non disponible

Le béryllium métal possède également des applications qui se situent principalement dans le secteur des hautes technologies telles que l'aérospatiale, le nucléaire et l'instrumentation scientifique et médicale. Quant à l'oxyde de béryllium, il est utilisé dans les céramiques isolantes, les dispositifs à micro-ondes, les lasers de haute puissance et dans des applications aérospatiales et militaires. Il est produit par la décomposition thermique de composés de béryllium lors de traitements à haute température. Notons également que l'oxyde de béryllium se forme facilement lorsque des composés de béryllium sont exposés à l'air.

1.2 Effets sur la santé et réglementation

1.2.1 Effets sur la santé

Dès la fin des années 40, des médecins ont soupçonné que l'existence de problèmes de santé chez des travailleurs de l'industrie de fabrication de tubes fluorescents pourrait être liée à une certaine toxicité du béryllium. En 1949, l'industrie cessait l'utilisation de composés phosphorés de Be suite à l'effet combiné de rapports médicaux reliant le béryllium aux problèmes de santé observés chez les travailleurs et de l'inquiétude de la population (Kolanz, 2001). Les processus d'absorption et d'élimination du béryllium entraînant une

affection pulmonaire, connue aujourd'hui comme la beryllose chronique (BC), n'étaient pas encore expliqués à cette époque. Mais depuis les années 90, les recherches se sont multipliées pour mieux comprendre et connaître les risques d'exposition au Be et du développement de la BC (Paustenbach, Madl et Greene, 2001). Il est maintenant connu qu'elle consiste en une inflammation persistante dans les poumons puis à la formation de lésions granulomateuses. Ces lésions mèneraient éventuellement à une fibrose et à la destruction du parenchyme pulmonaire (Paustenbach Madl et Greene, 2001). La BC serait la progression d'une phase de sensibilisation qui consiste en une réponse immunitaire spécifique suite à une exposition au Be. Il existe une période de latence entre l'exposition et le développement de la maladie pouvant aller jusqu'à plusieurs dizaines d'années (IARC, 1993). La réaction de sensibilisation est observée chez environ 16% des individus exposés (Newman, Lloyd et Daniloff, 1996). L'avancement des recherches a mis en lumière la présence d'une prédisposition génétique à la réaction de sensibilisation. Cependant, c'est plus de 50% des cas de sensibilisation qui ne dégénèrent pas vers la BC (ACGIH, 2009). La voie d'absorption principale du Be est connue comme étant l'inhalation de particules, toutefois des études récentes semblent démontrer que la pénétration cutanée ne serait pas négligeable dans le processus de sensibilisation (Day, 2006 ; Tinkle, 2003). Plusieurs variables doivent être considérées telles que le niveau d'exposition, la dose, la fréquence d'exposition, la spéciation et la taille des particules (Paustenbach, Madl et Greene, 2001). Dans le cas de l'inhalation, la taille des particules est déterminante : plus les particules sont fines, plus elles peuvent pénétrer profondément dans les voies respiratoires. Les deux principales fractions, rencontrées en hygiène du travail, sont la fraction respirable (particules de $<4\mu\text{m}$) et la fraction inhalable (diamètre $<100\mu\text{m}$) (AQHSST, 2004). La solubilité des différentes espèces de Be dans les fluides pulmonaires aura aussi un impact sur leur rétention dans les poumons (Paustenbach, Madl et Greene, 2001). Tandis que lors de contact cutané, la forme chimique du Be aura une incidence plus importante quant à la possibilité de pénétrer la barrière dermique. Les sels solubles et les particules insolubles de faible granulométrie ($<1\mu\text{m}$) ont démontré leur capacité à pénétrer la peau (Tinkle et al., 2003). Le beryllium est reconnu comme étant l'élément non-radioactif le plus toxique (Schmidbaur, 2001).

La population à risque face à l'exposition au Be est principalement constituée de travailleurs des industries où le Be est utilisé comme matériau ainsi que celles où il est présent comme produit secondaire. Toutefois, des cas de maladie reliés au Be ont également été recensés aux États-Unis chez des individus n'ayant pas eu de contact direct avec le Be (Kolaniz 2001).

1.2.2 Réglementation et situation québécoise

Une limite d'exposition pour le Be dans l'air de $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ a été proposée il y a plus de 50 ans par le laboratoire de santé et sécurité de la Commission de l'énergie atomique aux USA. Depuis, cette limite d'exposition a été adoptée par différents organismes de référence en la matière. L'*Occupational Safety and Health Association* (OSHA) aux États-Unis impose une limite d'exposition permise de $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Le *National Institute of Occupational Safety and Health* (NIOSH) recommande également cette valeur en tant que valeur d'exposition moyenne pondérée (VEMP). Le *Health and Safety Executive* (HSE) au Royaume-Uni a également établi la VEMP à $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Brisson et al., 2006b). D'autres pays tel que la France, l'Australie, le Japon et la Suède ont également adopté cette valeur (IARC, 1993).

Au Québec, il y a eu une recrudescence des demandes de réclamations pour des maladies professionnelles relatives à l'exposition au Be. Depuis 1999, ce sont 76 travailleurs qui ont été indemnisés suite à un diagnostic de sensibilisation ou de BC. La préoccupation de la commission de la santé et de la sécurité du travail (CSST) sur la situation a mené, en 2000, à la mise sur pied de l'Opération Béryllium, avec l'aide de ses partenaires (IRSST, réseau de la santé, les associations sectorielles paritaires concernées). Cette intervention avait pour but de documenter les établissements où le Be était présent, de réduire l'exposition au Be au minimum des travailleurs ainsi que d'assurer le contrôle et la prévention face au risque présenté par ce contaminant. L'atteinte des objectifs de l'opération a fourni une lecture plus juste de la situation du Be au Québec (Faucher, 2006). En effet, les secteurs à risque ainsi que les niveaux d'exposition des travailleurs ont été cartographiés. Les campagnes d'échantillonnages menées dans des établissements du secteur des fonderies, de

l'aéronautique, de l'environnement et de l'usinage de pièces ont révélé des niveaux de Be supérieurs ou égaux à $0,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ dans 17% des cas (Dion, 2006). Dans le but d'apporter des mesures correctives ou préventives, des outils d'information, de formation et de communication ont été mis à la disposition des travailleurs et des employeurs. De plus afin d'assurer la surveillance médicale, trois laboratoires d'immunologie québécois se sont dotés d'un test de prolifération lymphocytaire induite par le Be (BeLPT). De son côté, l'IRSST a développé une méthode d'analyse pour quantifier le Be dans l'air et les surfaces. En 2005, l'IRSST a été l'hôte de la première Conférence Internationale de la recherche sur le Be. Le partage des connaissances sur le béryllium a été reconduit à Philadelphie en 2007 où des lacunes sur l'état des connaissances ont été mises en lumière dont notamment l'incapacité de la norme actuelle à protéger adéquatement les travailleurs (Viau et al., 2009). Au Québec, la valeur d'exposition moyenne pondérée (VEMP) a été réévaluée à la baisse passant de 2 à $0,15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en poussière totale avec un niveau d'action à $0,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$, une des normes les plus sévères au monde (Québec, 2007). Plus récemment en 2009, l'*American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH) aux États-Unis a recommandé la diminution de la VEMP à $0,05 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (en poussière inhalable) (ACGIH, 2009). Outre ces normes, le RSST a accordé au Be les notations *CI* pour cancérogène démontré chez l'humain, *EM* pour une exposition qui doit être réduite au minimum, *S* pour le risque de sensibilisation et *RP* pour la recirculation prohibée (Québec, 2007). L'ACGIH a ajouté la notification de *Skin* puisque la pénétration dermique du Be a été démontrée (ACGIH, 2009).

Les dépôts de poussières sur les surfaces sont une source d'exposition potentielle que ce soit par contact cutané ou par une re-suspension par un brassage de l'air. Il n'existe pas de normes pour les surfaces mais des valeurs de référence sont toutefois appliquées, soit $0,2 \mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$ pour une zone reconnue sans Be et $3 \mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$ dans une zone où il y a présence de Be. (Brisson et al, 2006b, Dion et Perrault, 2004)

1.3 Méthodes actuellement utilisées pour l'analyse du béryllium

La surveillance de l'exposition nécessite l'utilisation de méthodes analytiques de plus en plus performantes qui permettent de mesurer des ultra-traces de béryllium. Les méthodes comportent 3 étapes : l'échantillonnage, la dissolution/extraction et l'analyse. Dans l'air des lieux de travail, l'échantillonnage est effectué sur cassette par aspiration des poussières à travers des filtres, à l'aide d'une pompe (IRSST, 2005). Pour les surfaces, des frottis sur une aire de 100 cm² sont effectués à l'aide de filtres ou de lingettes humides de type Ghost WipesTM (IRSST, 2005 ; ASTM, 2003). La dissolution se fait dans un milieu acide pour détruire la matière organique du média d'échantillonnage et surtout pour solubiliser les particules de béryllium peu importe leurs formes chimiques. Les méthodes standards d'analyse actuelles utilisent principalement les techniques d'absorption atomique avec four au graphite, de plasma à couplage inductif avec la spectroscopie d'émission atomique (ICP-AES) et de plasma à couplage inductif couplé à la spectrométrie de masse (ICP-MS). (Brisson et al., 2006a). Cette dernière est la plus performante au niveau des limites de détection et possède également l'avantage de présenter très peu d'interférences. Par contre, l'équipement et les coûts d'opération sont plus élevés.

Tableau 1.2: Méthodes standards disponibles pour le dosage du béryllium dans l'air en milieu de travail.

Méthode	Média échantillonnage	Média dissolution	Technique d'analyse	LD ^b estimée /(µg/éch.)	Références
NIOSH7300	Filtre ECM ^a	HNO ₃ /HClO ₄	ICP-AES	0,005	NIOSH, 2003
OSHA ID-125G	Filtre ECM	H ₂ SO ₄ /HNO ₃ / H ₂ O ₂ /HCl	ICP-AES	0,043	OSHA, 2002
NIOSH 7102	Filtre ECM	H ₂ SO ₄ /HNO ₃	AAFG	0,005	NIOSH, 1994
IRSST359	Filtre ECM	HNO ₃	ICP-MS	0,0005	IRSST, 2007
EPA200.7	Filtre ECM	HNO ₃ /HCl	ICP-AES	0,014	EPA, 1994

^afiltre d'esters de cellulose mélangés

^blimite de détection

1.4 Problématique et objectifs

Les délais reliés à l'échantillonnage, à la préparation et à l'analyse du béryllium dans l'air et sur les surfaces justifient la nécessité de développer une méthode d'analyse simple et rapide. Cette méthode pourrait être disponible en complément à la méthode ICP-MS afin de permettre l'identification, du moins préliminaire, d'une situation où il y a présence d'un risque pour les travailleurs. La méthode pourrait également donner la possibilité d'effectuer des suivis de décontamination sur les lieux même du processus. Pour ce faire, il est nécessaire de se baser sur une technique analytique facilement accessible. L'utilisation de la fluorescence moléculaire possède l'avantage sur les techniques spectrométriques d'être portative puisque des appareils de moins de 5 kg sont disponibles sur le marché ainsi que d'être moins coûteuse. Une méthode d'extraction du Be doit être adaptée à la fluorescence tout en conservant des taux de récupération du Be élevés. La méthode pourrait être implantée dans les milieux de travail permettant ainsi des mesures rapides de quantités de Be en deçà des normes ou des valeurs de référence en vigueur. Bien que des méthodes similaires (ou équivalentes) existent actuellement dans la littérature, la méthode qui sera développée à l'IRSST, devra rencontrer les objectifs de validation établis par l'organisme (IRSST, 2006a).

1.5 Spectrofluorométrie

1.5.1 Fluorescence moléculaire

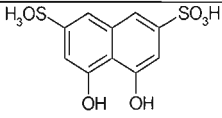
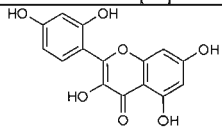
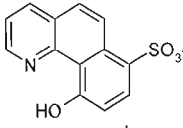
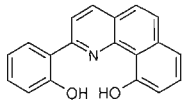
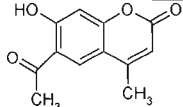
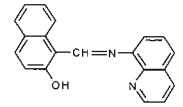
La fluorescence fait partie des phénomènes de photoluminescence due à l'excitation des molécules qui est produite par l'absorption de photons dans l'UV-visible. La fluorescence moléculaire est une technique spectrophotométrique très sensible. En effet, l'environnement d'une molécule, que ce soit le pH, la température, la polarité, les ions ou la présence de liaisons hydrogènes, influence la fluorescence de celle-ci. Lors de l'irradiation, la molécule absorbe un photon causant la transition d'un électron à l'état fondamental vers un des états excités avec conservation du spin. Le niveau énergétique de l'état excité atteint dépend de l'énergie d'irradiation (la longueur d'onde). Étant donné la proximité entre les différents

niveaux excités, ils sont très près énergétiquement les uns des autres. Les électrons excités vont donc perdre facilement de l'énergie par conversion interne (processus non radiatif) pour descendre jusqu'au niveau excité le plus bas. L'émission de la fluorescence (processus radiatif) se produit lorsqu'il y a transition de l'électron de l'état excité le plus bas (LUMO) vers l'état fondamental (HOMO). La longueur d'onde de l'émission correspond à l'énergie libérée lors de cette transition, ce qui correspond au gap énergétique entre ces deux niveaux. Donc, une molécule dans un même environnement aura toujours la même longueur d'onde d'émission peu importe l'énergie d'irradiation (dans l'UV-visible) car son gap énergétique demeurera inchangé. Des phénomènes compétitifs de désexcitation peuvent diminuer ou annuler la fluorescence comme le transfert d'énergie, de protons ou d'électrons, un changement conformationnel, etc. Les molécules qui sont les plus susceptibles de présenter des propriétés de fluorescence ont une structure aromatique, hautement conjuguée et planaire. Lorsque les transitions de plus basses énergies impliquées sont des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$, de meilleurs coefficients d'absorption molaires et rendements quantiques sont généralement obtenus. Alors que les transitions $n \rightarrow \pi^*$ ont un effet inhibiteur de la fluorescence puisque le passage inter-système (un processus non-radiatif où il y a transition d'un état singulet vers un état triplet) est favorisé. Ces transitions se rencontrent notamment dans les cas où il y a la présence d'un atome lourd, d'un groupement nitro, d'azote hétérocyclique (Valeur, 2004).

1.5.2 La fluorescence et le béryllium

Les méthodes fluorimétriques font partie des outils d'analyse du Be depuis les années 60 (IARC, 1993). Malgré que le béryllium n'émette aucune fluorescence dans l'UV-visible, le couplage avec un ligand ayant des propriétés de fluorescence en permet l'analyse. Dans la littérature, plusieurs ligands ont été répertoriés pour complexer le Be, tel que montré au tableau 1.3. Certains auteurs rapportent même la création de ligand spécifique au Be (Keizer, Sauer et McCleskey, 2004).

Tableau 1.3: Présentation de chromophores pour l'analyse du Be en fluorescence.

Chromophore	Solvant	LD	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	Interférences	Références
 Acide chromotropique	H ₂ O	ND ^a	362/387	Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Mg ²⁺ , Pb ²⁺ , Fe ³⁺ , Co ²⁺	Pal, 1992
 Morin	H ₂ O /Triton-X	40 ng/L	440/530	Zn ²⁺ , F ⁻ , Cu ²⁺ , Cd ²⁺	Jiang, 2003
 HBQS ^b	H ₂ O /NaOH	4,7 ng/L	385/475	B ³⁺ , Fe ³⁺	Matsumiya, 2001
 HPHBQ ^c	H ₂ O	39 pg/L	420/496	Al	Matsumiya, 2003
 4-methyl-6-acetyl-7- hydroxycoumarin	H ₂ O/benzène	ND	403/465	Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Cr ³⁺ , Pb ²⁺ , Fe ³⁺ , Al, EDTA, Ti	Yoshida, 1990
 HNAAQ ^d	H ₂ O /EtOH	99 ng/L	410/450	Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Mg ²⁺ , Pb ²⁺ , Fe ³⁺ , Ca ²⁺ etc	Jiang, 2003

^a non disponible^b 10-hydroxybenzo[h]quinoline sulfoné^c 2-(2'-hydroxyphényl)-10-hydroxybenzo[h]quinoline^d 2-hydroxy-1-naphtaldehydène-8-aminoquinoline

Le 4-methyl-6-acetyl-7-hydroxycoumarin, le 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate (HBQS), le 2-(2'-hydroxyphényl)-10-hydroxybenzo[h]quinoline (HPHBQ) et l'acide chromotropique sont intéressants puisque leur complexe possède une longueur d'onde d'émission suffisamment décalée du réactif pour permettre une mesure en solution sans

extraction (Yoshida, Ito et Murata, 1990 ; Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001 ; Matsumiya et Hoshino, 2003 ; Pal et Baski, 1992). Ce qui n'est pas le cas du 2-hydroxy-1-naphtaldehydène-8-aminoquinoline (HNAAQ). (Jiang et He, 2003). Toutefois, les interférences provenant du nickel, du fer, du cuivre, de l'aluminium, du plomb surviennent à des faibles ratios avec l'acide chromotropique, le 4-méthyl-6-acétyl-7-hydroxycoumarin et le HNAAQ. Étant donné que ces métaux sont couramment retrouvés avec le Be, ces trois molécules ne conviendraient pas dans l'analyse d'ultra-traces (au niveau du ppb).

Une méthode fluorométrique de détection du béryllium a été développée au *Los Alamos National Laboratory* (LANL). L'analyse s'effectue grâce à la complexation instantanée du Be avec le HBQS. Les auteurs rapportent un domaine de mesure linéaire de 14 ng à 6 µg de Be. À l'aide du NH_4HF_2 , ils réussissent à obtenir un taux de récupération du Be accru, soit jusqu'à 97%. Cette méthode rencontre les limites de détection comparable aux autres instruments analytiques utilisés dans les méthodes de référence (Agrawal et al., 2006).

1.6 Critères généraux et spécifiques requis pour le développement de la méthode

1.6.1 Critères généraux

Afin de développer une méthode d'analyse du Be en fluorescence, il est nécessaire de considérer les aspects suivants :

- Cibler un chromophore qui devrait idéalement être disponible commercialement..
- Établir une compatibilité entre la technique analytique et la méthode d'extraction du Be.
- Et, l'évaluation de la méthode pour l'application en hygiène du travail.

1.6.2 Critères spécifiques

Les critères spécifiques du développement englobent :

- L'étude de quelques chromophores afin d'en cibler un qui répondra à des critères essentiels tel que la présence de propriétés de fluorescence, de sensibilité, et de stabilité et l'évidence de complexation avec le Be.
- L'établissement d'une technique de dissolution et la recherche d'un solvant compatible permettant d'obtenir des taux de récupération représentant la totalité ou la quasi-totalité du Be échantillonné.
- L'évaluation des interférences potentielles causées par d'autres cations fréquemment rencontrés en présence du béryllium.
- La méthode développée doit permettre le dosage du Be à des niveaux de concentrations tels que rencontrés en hygiène du travail, c'est-à-dire couvrant au minimum entre 10 et 200% de la valeur de la norme québécoise.
- La démonstration de la solidité de la méthode par l'application des paramètres de validation tels que définis par l'IRSST (IRSST, 2006a).

1.6.2.1 Choix des chromophores

Trois réactifs déjà documentés dans la littérature pour complexer le béryllium seront étudiés. Le premier réactif est le 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate (HBQS) qui semble très prometteur. Cette molécule possède une fluorescence maximale à 565 nm qui est déplacée vers 475 nm lorsque complexée avec le Be. Le complexe est présenté à la figure 1.1. D'après la tolérance aux interférents potentiels, ce chromophore semble sélectif au Be (Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001). Une limite de détection estimée de 0,00075 µg/filtre a déjà été rapportée (Ashley et al., 2007). Le réactif est disponible commercialement sous forme de solution de détection, toutefois il en coûte plusieurs milliers de dollars pour quelques centaines de millilitres.

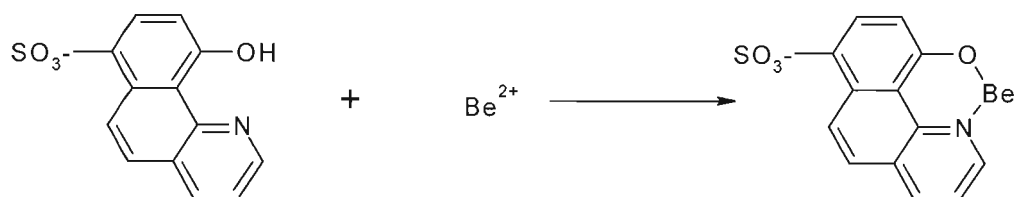


Figure 1.1: Complexation du Be par le HBQS.

Le deuxième réactif retenu est le 1-(2,4-dihydroxy-1-phénylazo)-8-hydroxy-3,6-naphtalènedisulfonate (H-Resorcinol). Il est cité pour permettre la complexation du Be tel que montré à la figure 1.2 et ainsi procéder à l'analyse par chromatographie liquide à haute performance couplée à une détection UV (HPLC-UV) (Hoshino et al., 1996). La limite de détection rapportée est de 7,2 ng/L. Aucune étude n'a été trouvée quant à l'application de ce ligand pour des mesures en fluorescence. Malgré tout, sa structure permet d'émettre l'hypothèse qu'il possède des propriétés de fluorescence. Il est possible de se le procurer chez un fournisseur de produits chimiques.

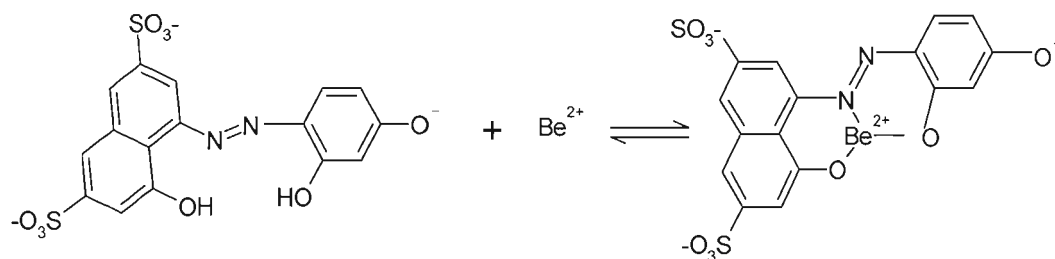


Figure 1.2: Complexation du Be par le H-Resorcinol.

Le troisième réactif sélectionné, le 2-(2'-hydroxyphényl)-10-hydroxybenzo[h]quinoline (HPHBQ) forme un complexe avec le Be qui émet à 496 nm (Matsumiya et Hoshino, 2003). L'étude rapporte l'utilisation de la HPLC-Fluorescence pour l'analyse. Toutefois, ce réactif n'est pas disponible commercialement.

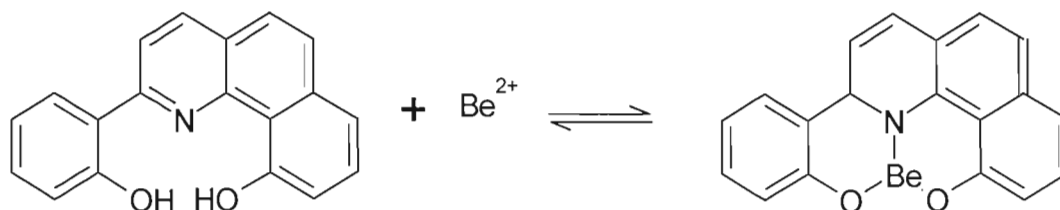


Figure 1.3: Complexation du Be par le HPHBQ.

Des nombreux chromophores documentés dans la littérature, le choix de ces trois est supporté par la facilité de formation du complexe (en milieu aqueux, sans chauffage) et de plus, ils semblent très sélectifs en présence d'autres ions potentiellement interférents. L'analyse d'ultra-traces paraît envisageable en raison des basses limites de détection.

1.6.2.2 Dissolution et extraction

La dissolution est une étape importante dans le processus puisqu'elle doit permettre de mettre en solution tout le Be échantillonné et ainsi obtenir une représentation la plus fidèle possible de l'exposition des travailleurs. Les différentes techniques d'extraction tels que le chauffage, le bain à ultrasons et l'agitation pourront être testées pour leur efficacité de dissolution. Afin de reproduire le plus possible les conditions réelles d'échantillonnage en milieu de travail, les tests de dissolution/extraction seront réalisés avec un composé de béryllium sous forme solide. Plusieurs formes de Be solide sont disponibles ; Be^0 , BeAl , BeCu , BeCl et BeO . Le BeO est le seul composé retenu en raison de sa disponibilité commerciale et du défi que représente son insolubilité. En effet, de nombreux auteurs rapportent la difficulté d'amener cette espèce réfractaire en solution. Seules des attaques agressives avec des acides concentrés peuvent y parvenir (Brisson et al., 2006b ; Stefaniak et al., 2007 ; Coleman et al., 2004). L'acide sulfurique à concentration élevée est réputé suffisamment puissant pour dissoudre des particules de BeO . Des auteurs rapportent également une bonne solubilité du BeO dans des solutions fortement alcalines ou fluorhydrique concentré (Brisson et al., 2006b ; Coleman et al., 2004). Les méthodes actuellement validées pour l'analyse du Be procèdent toutes par une dissolution acide, tel que présenté au tableau 1.2, et différentes combinaisons d'acides sont possibles.

Dans le cadre de cette étude, les essais de mise en solution seront conduits avec différents solvants : le NaOH, un mélange $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ et le NH_4HF_2 . Il n'existe pas d'étude sur la solubilisation du Be par le NaOH mais un brevet datant des années 70 inclut le NaOH dans leur procédé d'extraction du Be des minerais (Grunig, Davis et Aitkenhead, 1972). Ce choix était également conduit par l'obtention d'un pH alcalin, ce qui pourrait être souhaitable étant donné que les chromophores choisis présentent une fluorescence en milieu basique. Ce même brevet ainsi que des publications récentes (Ashley et al., 2007; Agrawal, Tonazzi et Cronin, 2007) font également mention de l'utilisation du NH_4HF_2 pour solubiliser le BeO. Ils rapportent la solubilisation du BeO par ce produit avec une récupération de près de 100 %.

1.6.2.3 Choix des interférents potentiels

Le béryllium est surtout utilisé dans le milieu industriel en tant que composante d'alliage métallique. Il sera donc retrouvé le plus souvent dans les milieux de travail en présence d'autres métaux. Les alliages les plus courants se font avec l'aluminium, le cuivre, le fer, le nickel et le chrome. Ces métaux devront donc être étudiés plus particulièrement. D'autres cations ou métaux seront étudiés, leur choix sera basé sur leur incidence et sur d'autres études d'interférences pour le béryllium (Minogue et al., 2005 ; Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001).

1.6.2.4 Validation

L'évaluation des paramètres de répétabilité et de réplicabilité permettront d'apprécier la précision de la méthode. La limite de détection méthodologique quant à elle, définira les quantités minimales qui pourront être détectées par la méthode. Celle-ci devrait être suffisamment basse pour que la limite de quantification soit inférieure à une concentration de Be représentant 10 % de la valeur de la norme.

CHAPITRE II

MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Produits chimiques

La poudre d'oxyde de béryllium (99,7%) est un matériel de référence (#lot: 1877) du National Institute of Standard and Technology préparé par Brush Wellman Inc. (Elmore, Ohio). Les solutions étalons de Be utilisées sont certifiées matériel de référence. Les solutions standards de 1000 mg/L Be de grade Claritas et de 10000 mg/L de grade Assurance proviennent de Spex Certiprep (Metuchen, NJ). La solution standard de 10 mg/L grade PlasmaCal provient de SCP Plasma Cal (Baie d'Urfé, Qc). Pour les études d'interférences, les solutions standards de métaux de 10000 mg/L (Al, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sn, Ba, K, Na et Zn) sont de grade Assurance par Spex Certiprep (Metuchen, NJ). Le V et le W de 1000 mg/L sont de grade PlasmaCal de SCP Sciences (Baie d'Urfé, Qc).

Pour préparer la suspension de BeO, l'isopropanol est de grade ACS plus de Fisher Scientific (Ottawa, ON). Pour les dissolutions, le NaOH 10N utilisé est de grade réactif de J.T. Baker (Phillipsburg, NJ) et l'acide sulfurique 95% p/p de grade Optima de Fisher Scientific (Ottawa, ON). L'acide nitrique grade trace métal (70% p/p) de chez Fisher Scientific (Ottawa, ON) et du NH_4HF_2 solide (99,999%) de grade métal de Sigma-Aldrich (Oakville, ON) ont aussi été utilisés pour les dissolutions et pour les solutions de dilution.

Le H-Resorcinol (95%) provient de TCI America (Portland, OR). La synthèse du HBQS a été réalisée avec du HBQ (98%) de Alfa Aesar (Ward Hill, MA) ainsi que l'acide chlorosulfonique de Fisher Scientific (Ottawa, ON). Pour préparer la solution de HBQS, ces

réactifs ont été nécessaires : EDTA grade ACS de Aldrich (Milwaukee, WI), L-Lysine monohydrochloride (99+%) de Alfa Aesar (Ward Hill, MA), du NaOH 10N de J.T. Baker. L'eau utilisée dans les préparations est de type nanopure purifiée avec un système Milli-Q Element A-10 (Millipore, Billerica, MA).

2.1.1 Santé et sécurité relativement à l'utilisation du Be et du NH_4HF_2

La poudre de BeO doit être manipulée avec les mesures de protection appropriées. En tout temps, le manipulateur doit porter des gants, un sarrau et des lunettes. Lors des pesées, il doit porter, en plus, un sarrau jetable et un masque respiratoire avec des cartouches à poussières. Les pesées doivent être faites dans un environnement contrôlé tel une hotte avec filtration d'air de type HEPA de Misonix Inc (Farmingdale, NY). Après utilisation, tout le matériel utilisé et les surfaces de cette hotte doivent être décontaminés avec un chiffon et de l'eau savonneuse. Toutes les solutions contenant le BeO et leurs manipulations doivent être circonscrites dans une hotte prévue exclusivement à cet effet.

La solution de 1% NH_4HF_2 doit être conservée dans un contenant de plastique et dans un endroit bien ventilé. L'acide fluorhydrique est toxique et corrosif, et une VEMP a été établie à 2,5 mg/m³ (Québec, 2007). Tout contact avec la peau et les yeux doit être évité. Un onguent de sulfate de magnésium doit être disponible en cas de contact accidentel pour application immédiate, et un médecin doit ensuite être contacté. Son action corrosive sur les métaux peut causer des dégagements d'hydrogène, il est nécessaire de toujours travailler sous la hotte lors de dissolution de métaux. Des fumées toxiques de F, NO_x et NH₃ peuvent également se former par décomposition thermique (RepTox, 2008).

2.2 Instrumentation

Les mesures de fluorescence du H-Resorcinol ont été faites avec un spectromètre de luminescence de Perkin Elmer (Waltham, MA) modèle LS50B avec une lampe au Xénon, et les chromatogrammes avec le système HPLC de Hitachi modèle L-6200A (Pleasanton, CA) muni d'une boucle d'injection Rhéodyne modèle 7125, d'un détecteur UV Varian modèle 9050 (Palo Alto, CA) et d'un détecteur fluorescence Hitachi L-4780 avec une lampe au Xénon. La colonne analytique était de marque CSC select (Saint-Laurent, QC). Du tris(hydroxyméthyl)-aminométhane-HCl a également été utilisé pour tamponner la phase mobile à un pH de 8,8.

Tableau 2.1: Conditions chromatographiques utilisées pour l'analyse du H-Resorcinol.

Volume d'injection	20 μ L
Colonne analytique	ODS2 (C ₁₈ , 15 x 0,46 cm)
Phase mobile ^a	35 %(p/p) de méthanol/eau 1x10 ⁻⁴ mol de disodium acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) 0,013 mol de bromure de tétrabutylammonium (TBABr)
Débit	0,5 mL/min
Longueur d'onde absorbance (λ_{abs})	500 nm
Longueur d'onde d'excitation et d'émission	λ_{ex} = 380 nm λ_{em} = 437 nm

^aDu tris(hydroxyméthyl)-aminométhane-HCl (tris-HCl) a également été utilisé pour tamponner la phase mobile à un pH de 8,8.

Les mesures de fluorescence du HBQS ont été faites avec un fluorimètre Hitachi modèle F-2000 (Pleasanton, CA) muni d'une lampe au Xénon. Cet appareil comporte 3 modes de

mesure. Le mode balayage a principalement été utilisé pour les mesures préliminaires et les interférences. Le tableau 2.2 décrit la configuration des paramètres de mesures.

Tableau 2.2: Paramètres de mesure sur le Hitachi F-2000.

Vitesse de balayage	240 nm/min
Bande passante	10 nm
Temps d'acquisition	0,5 s
Voltage du photomultiplicateur	700 V

Deux fluorimètres portables ont été essayés pour le développement de la méthode. Le premier est un fluorimètre d'Ocean Optics (Dunedin, FL), modèle USB4000. La source est une diode électroluminescente (DEL) à 380 nm. La lumière émise est acheminée au détecteur par un câble de fibre optique.

Le deuxième fluorimètre est le ModulusTM single tube multimode reader de Turner Biosystems (Sunnyvale, CA). Le Modulus est un fluorimètre portable de 33x27x21 cm pesant seulement 3 kg. Il est compatible avec Microsoft Excel. Le système optique est contenu dans une cassette modulaire qui s'installe et se retire de l'appareil par l'analyste. La source est une DEL. Deux systèmes ont été commandés à la compagnie selon nos spécifications ; le premier (SO1) possède une excitation à 365 nm et une émission entre 475 et 485 nm et le deuxième (SO2) a une excitation à 385 nm et une émission entre 468 et 480 nm. L'appareil de fluorescence Modulus comporte deux modes de mesure : la mesure de la fluorescence brute et le mode de calibration. Celui-ci permet d'obtenir directement la concentration des échantillons en Be à partir d'une courbe d'étalonnage pré-enregistrée par l'utilisateur. Afin d'alléger le texte, si non mentionné, le fluorimètre utilisé est le Modulus et ses modules optiques seront désignés par SO1 et SO2, les paramètres des modules sont présentés au tableau 2.3.

Tableau 2.3: Paramètres des systèmes optiques du Modulus

Système optique	$\lambda_{\text{excitation}}$ (nm)	$\lambda_{\text{émission}}$ (nm)
SO1	365	475-485
SO2	385	468-480

Un spectromètre de masse à couplage à plasma inductif (ICP-MS) de marque Perkin Elmer Elan DRC-II (Waltham, MA) avec un échantillonneur ESI SC-Fast est utilisé pour des mesures comparatives. L'appareil est muni d'une pompe péristaltique à trois canaux pour acheminer la solution porteuse, l'échantillon et le standard interne vers la valve de mélange. Un passeur automatique d'échantillons couplé à la pompe péristaltique introduit la solution dans une chambre de vaporisation où le nébuliseur la transforme en un aérosol liquide composé de microgouttelettes de quelques μm à l'aide d'argon gazeux. L'aérosol ainsi formé est envoyé dans une torche à plasma d'argon à une température suffisamment haute pour vaporiser, dissocier, atomiser et ioniser complètement la plupart des éléments. Un système de vide différentiel accélère les ions produit par le plasma vers une lentille chargée qui extrait les ions chargés positivement et les transporte vers un filtre de masse quadripolaire. Seuls les ions ayant le rapport m/z (masse/charge) désiré seront transmis au détecteur. La détection s'effectue grâce à un multiplicateur d'électrons à dynodes discrètes (Thomas, 2004). Le tableau 2.4 donne les paramètres de l'ICP-MS pour la mesure.

Tableau 2.4: Paramètres de l'ICP-MS.

Isotope	^9Be
Standard interne	^6Li
Débit des gaz (Plasma)	15 L/min
Débit des gaz (Auxiliaire)	1,2 L/min
Débit des gaz (Nébuliseur)	1,05 L/min
Puissance RF ICP	1100 W
Voltage du champ axial	350 V

2.3 Synthèse du HBQS

Le HBQS n'est pas disponible auprès d'un fournisseur de produit chimique. Toutefois, le HBQ, un produit dont la structure est très semblable, est disponible. Par une réaction de sulfonation simple, le HBQS peut être obtenu tel que montré à la figure 2.1.

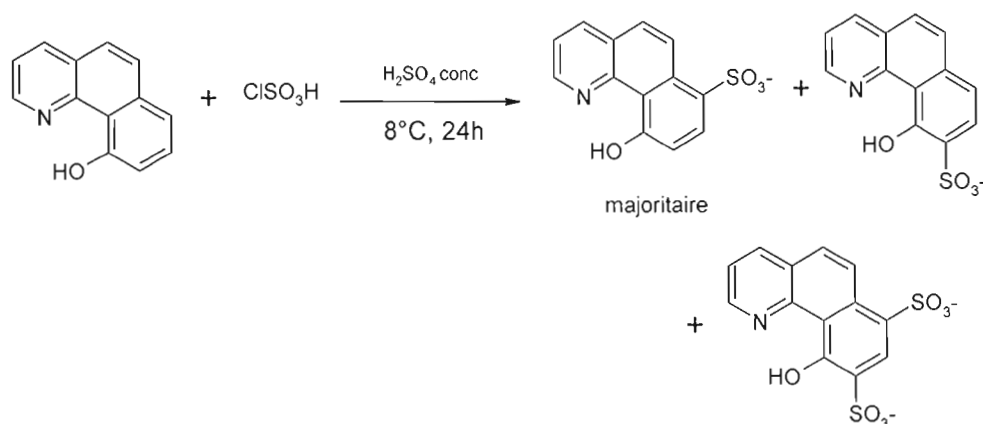


Figure 2.1: Réaction de sulfonation du HBQ.

Dans un ballon rond, verser 2,5 mL de H_2SO_4 concentré, puis y ajouter quelques gouttes de ClHSO_3 pour éliminer l'eau du H_2SO_4 . Ensuite, en agitant, ajouter goutte à goutte 1 mL de ClHSO_3 à l'aide d'une seringue. Plonger le ballon dans un bain de glace et transférer par petites portions ~1g de HBQ car la réaction est exothermique. Le ratio d'acide chlorosulfonique et de HBQ est de 2 équivalents pour 1. Le milieu réactionnel est ensuite maintenu en constante agitation. Lorsque la réaction est terminée, verser rapidement le contenu du ballon sur ~40 g de glace dans un bécher, le HBQS formé cristallise. Une fois la glace fondue, récupérer le solide par filtration sous vide et laver le produit plusieurs fois avec de l'acétone froid. Les conditions de réaction utilisées lors des deux essais réalisés sont présentées dans le tableau 2.5.

Les suivis de réaction ont été réalisés par chromatographie sur couche mince (CCM) sur des plaques de silice, l'élution dans un mélange d'acétate d'éthyle et de méthanol et les plaques ont été révélées à l'iode. Une recrystallisation est réalisée en solubilisant le solide

dans une solution basique de NaOH 0,01 N chaude puis la solution est graduellement acidifiée par l'ajout de quelques gouttes de HCl 5%. Le précipité est recueilli par filtration sous vide. Le produit est ensuite séché au dessiccateur.

Tableau 2.5: Détails des conditions de réaction de sulfonation.

Essais	Quantité HBQ (g)	Conditions
		T (°C)/ durée (h)
1	0,96690	8°C /24h
2	0,99301	1 ^{ère} étape : 8°C/ 3h, 2 ^e étape : 20°C / 21h

2.3.1 Caractérisation du HBQS synthétisé

Le produit synthétisé a été caractérisé par spectroscopie infra-rouge avec un appareil FT-IR Bomem de Hartmann & Braun (Burlington, ON) dans une pastille de KBr. La spectroscopie RMN¹H a aussi été utilisée, l'appareil est un Gemini2000 300 MHz de Varian (Palo Alto, CA). Le HBQS a été dissous dans le DMSO-d₆ (99,9 % de D, CDN Isotope, Pointe-Claire, Qc) et le réactif de départ, HBQ, a aussi été caractérisé par RMN¹H 300 MHz dans le CDCl₃ (99,8 % de D, CDN Isotope, Pointe-Claire, Qc).

2.4 Protocoles des méthodes analytiques

2.4.1 Nettoyage et décontamination de la verrerie

La verrerie est nettoyée et décontaminée selon les protocoles standards de l'IRSST (IRSST, 2006b). La verrerie est nettoyée avec un détergent au laveur automatique. Ensuite, elle est transférée dans des bacs de décontamination contenant un mélange d'eau et de HNO₃ (11:3) pour un minimum de 4 heures. Suite à la période de trempage, la verrerie est remise au laveur automatique pour un rinçage à l'eau pure.

2.4.2 Préparation des solutions

La solution de chromophore qui permettra de doser le béryllium est composée d'un mélange de 3 solutions. La première est une solution de 1,1 mM de HBQS préparé avec 0,015 g de HBQS dissous dans un volume total de 50 mL avec du NaOH 0,1 N. La deuxième, une solution d'EDTA à 10,7mM est préparée avec 0,19915 g d'EDTA dans un volume total de 50 mL avec de l'eau nanopure. La troisième, la L-Lysine monohydrochloride à 107 mM qui est préparée en dissolvant 1,95436 g de L-Lysine monohydrochloride dans environ 75 mL d'eau nanopure. Le pH est ajusté à 12,8 avec du NaOH 10 N avant de compléter le volume à 100 mL. Le mélange final contient 6 mL de HBQS 1,1 mM, 25 mL d'EDTA 10,7 mM et 50 mL de lysine 107 mM. Les solutions sont mélangées dans un ballon de 100 mL puis le pH est ajusté à 12,8 avec le NaOH 10 N avant d'être jaugé au volume avec de l'eau nanopure. La solution de chromophore contient une concentration de 66 μ M en HBQS. La solution est conservée dans une bouteille nalgène ambrée.

Trois séries de solutions étalons de Be ont été préparées et elles se différencient principalement par le solvant de dilution tel que montré au tableau 2.6. Les essais de dissolution qui utilisent des solvants différents justifient la nécessité de posséder 3 séries de standards pour les étalonnages.

Tableau 2.6: Préparation des solutions étalons de Be.

Série	Solvant de dilution	Grade de standard de Be utilisé	Concentration des étalons /ppb
1	HNO ₃ 1% (v/v)	PlasmaCal 10 ppm	0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0; 100,0; 135,0; 200,0; 800,0
2	NaOH 6N	Claritas 1000 ppm	40,0 ; 80,0 ; 100,0 ; 200,0 ; 800,0
3	NH ₄ HF ₂ 1% (p/v)	Assurance 10000 ppm	0,5; 1,0; 4,0; 10,0; 20,0; 40,0; 100,0; 200,0; 400,0; 800,0

Les étalons des séries 2 et 3 sont d'abord dilués dans l'eau nanopure avant d'être dilués dans leur solvant respectif puisque les standards sont dans des solutions de HNO_3 5%. Cela est une précaution nécessaire plus particulièrement dans le cas du NH_4HF_2 1% afin d'éviter la formation de nitrate d'ammonium.

2.4.3 Méthode de mesure de la fluorescence

Afin de rendre applicable la méthode pour la mesure de la norme et des valeurs de référence, deux étalonnages sont nécessaires pour couvrir la gamme des concentrations en Be rencontrées. Un premier, de basse teneur, couvre de 0 à 4 ppb et le deuxième, de haute teneur, s'étend de 4 à 40 ppb. La préparation des solutions pour les mesures de fluorescence sont les mêmes pour les échantillons et les étalons. Pour l'échelle des basses teneurs, les échantillons sont préparés en mélangeant directement, dans une cuvette pour la fluorescence, 0,4 mL de la solution d'échantillon et 1,6 mL de la solution de chromophore. Pour les hautes teneurs, 0,1 mL d'échantillon est utilisé pour 1,9 mL de solution de chromophore. Le volume total est limité à 2 mL. Les solutions sont préparées tout juste avant de les introduire dans l'appareil.

2.4.4 Études spectrophotométriques

Deux composés seront évalués pour leurs propriétés de fluorescence, le H-Resorcinol et le HBQS. Dans le cadre de l'étude des caractéristiques de la fluorescence plusieurs aspects ont été étudiés: les longueurs d'excitation et d'émission optimales pour le ligand et le complexe, la réponse en fonction des concentrations de Be, l'effet du pH sur la fluorescence et la stabilité de la solution de chromophore.

2.4.4.1 Détermination des longueurs d'onde optimales

Les longueurs d'onde d'excitation et d'émission sont mesurées à l'aide du fluorimètre Hitachi en mode balayage. Un mélange de 0,4 mL d'eau et de 1,6 mL de solution de HBQS est utilisé. En se basant sur la valeur disponible dans la littérature (Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001), la longueur d'onde d'excitation est fixée à 365 nm, un premier balayage entre 400 et 700 nm est réalisé pour déterminer la longueur d'onde d'émission du HBQS. La longueur d'onde d'émission est ensuite fixée à la valeur trouvée puis un balayage de 220 à 450 nm est effectué pour identifier les pics d'excitation. La même méthodologie est utilisée pour l'étude du complexe Be-HBQS, le 0,4 mL d'eau est remplacé par 0,4 mL d'une solution standard de 40 ppb.

2.4.4.2 Sensibilité de la réponse en fonction des quantités de Be

Des solutions étalons de Be ayant des concentrations de 1, 10, 20, 40 et 100 ppb ont été préparées à partir d'une dilution 1 dans 10 dans l'eau d'une solution stock de 1 ppm dans HNO_3 1%. Les solutions mesurées contiennent 0,1 mL de solution de Be et 1,9 mL de solution de HBQS. L'acquisition a été réalisée avec le Hitachi en mode balayage de l'émission entre 400 et 700 nm, la longueur d'onde d'excitation correspond à celle déterminée par l'expérimentation 2.4.4.1.

2.4.4.3 Effet du pH sur la fluorescence du complexe et du réactif

La solution de HBQS contient un tampon pour limiter les variations de pH qui affectent la fluorescence. Comme les procédés de dissolution de Be se font en milieu acide, il importait de mesurer l'impact de l'ajout de solution de Be acide à différents degrés à la solution de HBQS. L'impact de la présence d'une forte acidité a été vérifié sur le complexe de Be-HBQS ainsi que sur le HBQS seul. Des solutions de Be de 10 ppb (pour les basses teneurs) ont été préparées dans 1, 5, 10, 20, 30, 40 % de HNO_3 et de 100 ppb (pour les hautes teneurs) dans 1,

5, 10, 20, 30, 40, 50% de HNO_3 . Les solutions sont mesurées en appliquant le protocole de la section 2.4.3.

2.4.4.4 Étude de la stabilité de la solution de HBQS

Une solution de détection a été préparée pour vérifier sa stabilité. La solution est mesurée plusieurs fois sur une longue période, et cela à partir de sa préparation. Les mesures sont effectuées sur le Hitachi en mode balayage de l'émission entre 400 et 700 nm avec une longueur d'onde d'excitation à 365 nm. La solution mesurée contient 1,6 mL de solution de chromophore et 0,4 mL de 1 % HNO_3 .

2.4.5 Comparaison des réactifs, des cuvettes et évaluation des fluorimètres portables.

Le spectre de fluorescence du réactif synthétisé est comparé avec celui du produit commercial (Berylliant, Tucson, AZ). Les spectres des complexes formés avec chacun des réactifs sont également comparés.

Des cuvettes jetables en polyméthylméthacrylate et en polystyrène sont testées pour leur rendement par rapport aux cuvettes de verre. Si elles permettent des transmissions de lumière équivalentes au verre alors elles seront préconisées pour la méthode. L'évaluation est faite sur le signal du complexe de béryllium.

Les fluorimètres portables d'Ocean Optics (USB4000) et de Turner Biosystems (Modulus) sont comparés lors des mesures de chromophores et de complexe afin de déterminer lequel est le plus approprié pour la méthode. Pour le Modulus, les deux systèmes optiques, SO1 et SO2, sont comparés. Des étalonnages pour les basses et hautes teneurs en Be sont réalisés avec les deux systèmes optiques afin de comparer les réponses des deux

systèmes. Les étalons de Be utilisés sont ceux dans le HNO_3 1%. De plus, le mode de calibration est appliqué afin de vérifier s'il existe une différence dans les teneurs de Be obtenues selon le système optique.

2.4.6 Évaluation des interférences

Les interférences potentiellement causées par la présence d'autres métaux ont été évaluées sur des mesures en fluorescence du complexe de Be-HBQS. Les analyses peuvent être séparées en trois catégories : la présence d'interférences spectrophotométriques, l'effet d'une présence multi-élémentaire et l'impact de la présence de différents métaux sur le dosage du Be.

2.4.6.1 Interférences spectrophotométriques

Différents types de solutions d'interférents potentiels ont été préparées : métaux individuels ou multi-métaux. Les solutions de métaux individuels possèdent des concentrations variant de 0,15 mM à 8 mM et ont été préparées avec l'aluminium, le cuivre, le chrome, le fer et le nickel dans 1% HNO_3 . Les deux solutions multi-métaux contiennent tous les métaux suivants : calcium, cadmium, baryum, cobalt, potassium, magnésium, manganèse, sodium, plomb, étain, vanadium, tungstène et zinc, l'une est à 15 μM de chacun d'eux et l'autre à 400 μM .

Les tests sont effectués sur des solutions de HBQS et sur des solutions de Be-HBQS en observant l'effet de la présence par rapport à l'absence des interférents potentiels sur le spectre de fluorescence. Les concentrations des solutions de Be testées sont : 4 et 20 ppb dans les basses teneurs et pour les hautes teneurs, 40 et 135 ppb dans 1% HNO_3 . Les mesures sont réalisées sur le fluorimètre Hitachi en mode balayage sur une gamme de longueur d'onde d'émission allant de 400 à 700 nm et à deux longueurs d'onde d'excitation soit 365 et 385 nm et ainsi que sur le Modulus. Le tableau 2.7 illustre la composition des solutions mesurées. Le

volume de chromophore requis pour les basses concentrations est de 1,6 mL et pour les hautes de 1,8 mL.

Tableau 2.7: Composition volumique des métaux et du Be dans les solutions pour les tests d'interférences spectrophotométriques.

Série	Basse concentration		Haute concentration	
	Volume Be (mL)	Volume métaux (mL)	Volume Be (mL)	Volume métaux (mL)
Avec métaux	0,2	0,1	0,1	0,1
Sans métaux	0,2	0 ^a	0,1	0 ^a

^aL'absence de la solution de métaux est compensée par un volume égal de HNO₃ 1%

2.4.6.2 Études des interférences avec des solutions multi-élémentaires

L'impact de la présence de plusieurs ions métalliques simultanément a été étudié sur le fluorimètre Modulus avec SO₂. La composition des solutions multi-élémentaires est montrée au tableau 2.8. L'impact sur la fluorescence brute a été regardé avec des basses et hautes teneurs en béryllium. Les solutions étalons de Be de 4 ppb, 20 ppb, 40 ppb et 135 ppb dans 1% HNO₃ ont été utilisées.

Les mesures avec solutions de métaux de 1 à 6 ont été faites avec des solutions préparées selon le tableau 2.9. Tandis que pour la solution numéro 7, la composition utilisée est la même qu'au tableau 2.7. Le volume de chromophore requis pour les basses concentrations est de 1,6 mL et pour les hautes de 1,8 mL.

Tableau 2.8: Constitution des solutions d'ions multi-élémentaire pour les tests d'interférences.

#	Éléments contenus dans la solution	Concentration de chacun des ions (μM)
1	Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sn, Zn	400, 300, 200, 100, 50 et 15
2	Al, Ba, Ca, Cd, Co, K, Mg, Mn, Na, Pb, Sn, Zn	400
3	Ba, Ca, Cd, Co, Cr, K, Mg, Mn, Na, Pb, Sn, Zn	400
4	Ba, Ca, Cd, Co, Cu, K, Mg, Mn, Na, Pb, Sn, Zn	400
5	Ba, Ca, Cd, Co, Fe, K, Mg, Mn, Na, Pb, Sn, Zn	400
6	Ba, Ca, Cd, Co, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sn, Zn	400
7	Al, Cr, Cu, Fe, Ni	5000, 1600, 800, 400, 300 et 200

Tableau 2.9: Composition volumique des métaux et du Be dans les solutions pour les tests d'interférences spectrophotométriques.

Série	Basse concentration		Haute concentration	
	Volume Be (mL)	Volume métaux (mL)	Volume Be (mL)	Volume métaux (mL)
Avec métaux	0,2	0,2	0,1	0,1
Sans métaux	0,2	0 ^a	0,1	0 ^a

^aL'absence de la solution de métaux est compensée par un volume égal de HNO_3 1%.

2.4.6.3 Étude de l'impact de la présence d'ions métalliques sur la quantification du Be

Pour ce faire, la solution 1 du tableau 2.8 a été reprise dans les concentrations de 400 et 15 μM . Le dosage de solution de Be soluble a été fait pour 5 concentrations dans les basses teneurs (0,1; 0,2; 0,5; 1,0 et 2,0 ppb) et 5 concentrations dans les hautes teneurs (2,0; 5,0; 6,8;

10,0; et 40,0 ppb). Une première série de solutions de Be contenant l'un ou l'autre des mélanges d'interférents potentiels a été dosée puis les résultats ont été comparés à ceux d'une deuxième série contenant seulement du Be-HBQS. Les mesures ont été faites sur le Modulus en mode calibration avec le SO1. La composition des solutions est la même que celle présentée au tableau 2.9.

2.4.6.4 Comparaison avec les interférences observées en ICP-MS

Des solutions ayant démontré des interférences en fluorescence seront mesurées en ICP-MS (sans le chromophore) afin de voir si les interférences de la fluorescence sont évitables par des mesures en ICP-MS. Des solutions individuelles de Cu, Al, Cr, Fe, Ni à 400 μM , deux solutions contenant soit 250 ou 80 μM de chacun de ces métaux ; Al, Cu, Cr, Fe et Ni ainsi que cinq solutions contenant 16 éléments différents avec des concentrations totales d'ions de 320, 240, 160, 80 et 40 μM ont été mesurées en ICP-MS. Les solutions ont été mesurées sans la présence de Be, avec 0,4 et 2 ppb de Be.

2.4.7 Évaluation de la dissolution de poudre de BeO

2.4.7.1 Suspension de BeO

La manipulation des poudres de BeO impose des contraintes étant donné les risques reliés à l'exposition et à la contamination de l'environnement de travail. L'utilisation d'une suspension dans l'isopropanol facilite la manipulation de la poudre (Paquette, 2008). Elle a été préparée en pesant une masse de BeO avec une micro-balance de Mettler Toledo (Mississauga, ON). Deux suspensions ont été préparées comme montré au tableau 2.10. La poudre est ensuite transférée dans un ballon de 1L avec l'isopropanol, le volume est complété à environ 80% puis la suspension est mise au bain à ultrasons pour 30 minutes. Après quoi, la solution est complétée au trait de jauge et le ballon est bien fermé pour éviter l'évaporation

de l'isopropanol. La suspension est maintenue en agitation avec un barreau magnétique en tout temps.

Tableau 2.10: Quantité de BeO dans les suspensions utilisées.

Suspension 1	27,83 mg de BeO
Suspension 2	27,80 mg de BeO

2.4.7.2 Préparation des échantillons avec ou sans filtres

Des volumes allant de 100 à 1000 μL de la suspension de BeO sont délivrés par une pipette automatique dans des tubes de polypropylène de 50 mL. Là où requis, des filtres ECM de 37 mm et d'une porosité de 0,8 μm (SKC, Mississauga, ON) sont disposés préalablement dans chacun des tubes. Les embouts de pipette ne sont pas rincés avec la suspension avant de prélever le volume désiré. Toutefois, après avoir délivré le volume requis de la suspension, l'embout est rincé avec de l'isopropanol pour environ 2 volumes d'embout afin de récupérer les particules pouvant avoir adhéré à la paroi. Les embouts ont un usage unique. Par la suite, les tubes sont laissés au moins 3 jours sous la hotte sous une cage de plexiglas pour permettre l'évaporation complète de l'isopropanol.

2.4.7.3 Méthodes de dissolution

Les méthodes de dissolution ont été testées sur les échantillons préparés tel que mentionné en 2.4.7.2, avec ou sans la présence de filtre. Les conditions spécifiques des différents essais sont présentées dans le tableau 2.11.

Tableau 2.11: Paramètres des différents essais d'extraction du Be réalisés.

Solvant de dissolution	Volume (mL)	Durée du chauffage (min)	Sans filtre (SF), avec filtre (AF) ou Ghost Wipe (GW)
NaOH 6N	15	60, 90, 120, 180 & 240	SF
	25	60	SF
NaOH 10N	15	60	SF
HNO ₃ 50%	15	60	SF
H ₂ SO ₄ 50%	15	60	SF
1% HNO ₃ / H ₂ SO ₄ conc	5/ 0,5	60	SF & AF
	5 /0,6		
	5 / 0,7	180	SF & AF
	10/ 0,5 10/ 0,3 10/ 0,2 10/ 0,1	60 & 120	SF, AF & GW
	10/ 0,6		
	10/ 0,6	60, 120 & 180	SF
1% NH ₄ HF ₂	5	35, 60, 90	SF & AF
	5	30, 60, 120, 180, 240, 300, 24 h*	AF

*sans chauffage

Quelques essais ont été réalisés en présence d'un chiffon humide de type Ghost Wipes provenant d'Environmental Express (Mt. Pleasant, South Carolina). Un protocole général s'applique aux différents essais, d'abord un volume d'un solvant de dissolution donné est ajouté aux tubes dont l'isopropanol a été évaporé, la solution est ensuite chauffée dans un bloc chauffant (HotBlock™ Pro de Environmental Express, Mt. Pleasant, South Carolina) à 85°C pour une durée déterminée. Les tubes sont ensuite refroidis à température ambiante. Lorsque les tubes n'étaient couverts que d'un verre de montre durant le chauffage, le volume a dû être ré-ajusté. Tandis que ceux dont le couvercle est demeuré fermé, aucun ajustement

de volume n'a été requis. Par la suite, les solutions sont filtrées dans des tubes coniques de 15 mL à l'aide d'une seringue de 10 mL de BD syringe (Franklin Lakes, NJ) munie d'un filtre Millex HV en PVDF 0,45µm de Millipore Corporation (Billerica, MA).

2.4.7.4 Contre-vérification des quantités de BeO retrouvées dans les volumes délivrés de la suspension

Étant donné les variations possibles sur les quantités de BeO délivrées lors du prélèvement de la suspension, à chaque utilisation de la suspension un volume est transféré dans un bécher pour une analyse complémentaire à l'ICP-MS. L'analyse est effectuée d'après la méthode analytique utilisée par l'IRSST pour l'analyse du Be (IRSST, 2007).

2.4.7.5 Évaluation des contaminations

Afin d'identifier une contamination possible provenant des filtres ou des solvants, chaque dissolution est accompagnée d'une solution sans Be (blanc) qui a suivi les mêmes étapes que les échantillons et qui est mesurée de la même façon.

2.5 Validation des méthodes analytiques

La méthodologie pour la validation provient d'un protocole de développement, de mise au point et de validation de méthode analytique qui est appliqué à l'IRSST (IRSST, 2006a). Ce document a été conçu à l'aide de plusieurs publications traitant de la validation de méthode dont ceux d'organismes gouvernementaux reconnus tels OSHA, NIOSH et le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ).

2.5.1 Description des méthodes validées

Le processus de validation qui a été mené, comprend l'évaluation de la précision par la réplicabilité et la répétabilité ainsi que la limite de détection et de quantification. La précision a été étudiée pour les deux méthodes, soit la basse et la haute teneur en Be. Pour tous les paramètres évalués, le processus complet de traitement de l'échantillon a été appliqué. Les échantillons et leur traitement consistent en des enrichissements (*spikes*) de béryllium soluble sur des filtres ECM de 37 mm de 0,8 μm digérés sur un bloc chauffant à 85°C pendant 35 minutes à l'aide de 5 mL de NH_4HF_2 1% (la procédure générale de dissolution retrouvée au paragraphe 2.4.7.3 a été appliquée). Les résultats ont été obtenus avec le fluorimètre Modulus et le système optique SO2.

2.5.2 Évaluation de la réplicabilité

Ce paramètre permet d'évaluer la précision pouvant être obtenue sur les mesures successives d'un même échantillon dans les mêmes conditions : même laboratoire, même journée, même analyste, même appareil. Quatre niveaux de concentrations ont été choisis pour réaliser ce test. Pour chaque niveau, 6 réplicats de chacune des concentrations seront analysés l'un à la suite de l'autre.

Tableau 2.12: Niveaux de concentrations évalués pour la réplicabilité.

Niveaux de concentration (ppb)	
Basse teneur	Haute teneur
0,2; 0,4; 1,1; 2,2	2, 10, 20, 30

Le coefficient de variation est déterminé pour chaque niveau, à partir de la moyenne de 6 mesures de signal selon la formule suivante :

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \quad [1]$$

où,

s : écart-type

\bar{x} : la moyenne

La réplicabilité est ensuite calculée avec la moyenne des CV des 4 niveaux.

$$\text{Réplicabilité}(\%) = \frac{t_{\text{student}} \times CV_{\text{moy}}}{\sqrt{n}} \times 100 \quad [2]$$

où ,

t_{Student} : valeur t pour un niveau de confiance à 95% donné par la table de Student

CV_{moy} : coefficient de variation moyen

n : nombre total de mesures (inclut tous les niveaux de concentrations)

La valeur de réplicabilité doit être inférieure à 10% et l'écart entre les valeurs de concentrations des solutions mesurées et la valeur théorique ne doit pas dépasser $\pm 25\%$ dans 95% des cas (IRSST, 2006a).

2.5.3 Évaluation de la répétabilité

Ce paramètre permet d'évaluer la précision des résultats pouvant être obtenue sur la mesure de 4 niveaux de concentrations qui seront analysés 6 fois chacun. Au moins une des conditions d'analyse suivante doit être changée entre les répétitions soit la série d'analyse (si effectuée dans une même journée alors prendre des courbes différentes), l'analyste ou l'instrument.

Afin de donner une variabilité aux échantillons, ils ont été préparés à partir de différentes solutions étalons de Be. Pour deux analyses sur six, les échantillons ont été préparés à partir de la solution de SCP Plasma Cal, deux autres avec la solution de Spex grade Assurance et les deux derniers avec la solution de Spex grade Claritas (*voir* sect. 2.1 pour les spécifications des étalons). De plus, le traitement et l'analyse des échantillons ont été étalés sur des journées différentes. Les niveaux de concentrations utilisés sont les mêmes que pour la réplicabilité. Le coefficient de variation est déterminé pour chaque niveau, à partir de la moyenne de 6 valeurs de concentrations obtenues pour chacun selon la formule suivante :

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \quad [3]$$

où
 s : écart-type
 \bar{x} : moyenne

La répétabilité est ensuite calculée avec la moyenne des CV.

$$\text{Répétabilité}(\%) = \frac{t_{\text{student}} \times CV_{\text{moyen}}}{\sqrt{n}} \times 100 \quad [4]$$

où ,

t_{Student} : valeur t pour un niveau de confiance à 95% donné par la table de Student

CV_{moy} : coefficient de variation moyen

n : nombre total de mesures (inclut tous les niveaux de concentrations)

La valeur de répétabilité doit être inférieure à 10% et l'écart entre les valeurs de concentrations des solutions mesurées et la valeur théorique ne doit pas dépasser $\pm 25\%$ dans 95% des cas (IRSST, 2006a).

2.5.4 Évaluation de la limite de détection méthodologique

La limite de détection correspond à la concentration minimale de Be pouvant être détectée contenu dans un échantillon qui aura suivi le processus complet de traitement allant de la dissolution à la mesure. Elle est déterminée à partir de la mesure de la concentration de 10 parties aliquotes d'un même échantillon dans un même étalonnage. La concentration utilisée doit répondre à certains critères : le signal doit être statistiquement différent de celui produit par un blanc dans les mêmes conditions et elle doit se situer dans un intervalle compris entre 4 et 10 fois la limite de détection (ratio de conformité). La multiplication par un facteur 3 de l'écart-type des 10 mesures correspond à la limite de détection (IRSST, 2006a).

La limite de quantification méthodologique constitue la concentration minimale pouvant être quantifiée par une méthode d'analyse. Elle est déterminée à partir de la mesure de la concentration de 10 parties aliquotes d'un même échantillon dans un même étalonnage. La multiplication par un facteur 10 de l'écart-type de ces mesures correspond à la limite de quantification.

2.5.5 La sensibilité

La sensibilité dans un étalonnage linéaire est définie comme le rapport de la différence entre deux valeurs de signal compris le domaine de la courbe (Δy) et la différence entre les concentrations de Be qui correspondent à ces valeurs (Δx).

$$m = \frac{\Delta y}{\Delta x} \quad [5]$$

CHAPITRE III

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.1 Synthèse et caractérisation du HBQS

Les étapes utilisées pour synthétiser le HBQS ont été différentes de celles retrouvées dans la littérature (McCleskey et al., 2006; Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001). La sulfonation était réalisée à l'aide de l'acide sulfurique fumant alors que dans le cas présent c'est l'acide chlorosulfonique qui a été utilisé. Le produit de la réaction avait une texture glaiseuse et était difficilement récupérable sur le papier filtre. Suite à la recristallisation, le produit était plus poudreux et moins humide. Les deux essais de synthèses du HBQS réalisés dans le cadre de cette étude ont donné des résultats différents. Le premier produit était soluble seulement dans une solution alcaline tandis que le deuxième l'était aussi dans l'eau. Les produits n'étaient pas solubles dans l'acétone, le méthanol ni l'acétonitrile. Les spectroscopies RMN¹H et IR ont été utilisées pour caractériser les produits synthétisés.

3.1.1 Caractérisation RMN¹H

Les spectres RMN¹H du produit de la première synthèse et du produit de la deuxième synthèse montrent des déplacements chimiques qui diffèrent l'un de l'autre. La condition qui différencie principalement les deux essais est la température à laquelle le milieu de réaction est maintenu. Lors du 2^e essai, la réaction a été maintenue à la température ambiante (~20°C). Les déplacements chimiques obtenus sur le spectre RMN¹H de la première synthèse ont été comparés avec ceux retrouvés dans la littérature (McCleskey et al., 2006). Les déplacements chimiques, la multiplicité ainsi que les couplages observés correspondent aux valeurs de la littérature, comme montré au tableau

3.1. Les déplacements des protons correspondent à l'isomère avec une orientation du sulfonate en para par rapport au groupement hydroxyle. Ainsi, cela confirme que le produit synthétisé est le 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate.

Tableau 3.1: Description détaillée du spectre RMN¹H du HBQS de la 1^{ère} synthèse et comparaison avec les valeurs de la littérature (McCleskey et al., 2006).

	Littérature	Synthèse	Attribution proton
δ (ppm)	9,01	8,98	H_a
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	$J_{a-f}=4,8$; $J_{a-b}=1,6$	$J_{a-f}=4,7$; $J_{a-b}=1,7$	
δ (ppm)	8,67	8,64	H_b
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	$J_{b-f}=8,1$; $J_{a-b}=1,6$	$J_{b-f}=8$; $J_{a-b}=ND$	
δ (ppm)	9,00	8,92	H_c
Multiplicité	Doublet	Doublet	
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	$J_{c-d}=9,4$	$J_{c-d}=9,3$	
δ (ppm)	7,94	7,93	H_d
Multiplicité	Doublet	Doublet	
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	$J_{c-d}=9,4$	$J_{c-d}=9,3$	
δ (ppm)	8,12	8,11	H_e
Multiplicité	Doublet	Doublet	
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	$J_{g-i}=8,3$	$J_{g-i}=8,5$	
δ (ppm)	7,86	7,83	H_f
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	$J_{f-b}=8,1$; $J_{f-a}=4,8$	$J_{f-b}=8$; $J_{f-a}=4,8$	
δ (ppm)	7,08	7,07	H_i
Multiplicité	Doublet	Doublet	
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	$J_{i-g}=8,3$	$J_{i-g}=8,5$	

La figure 3.1 montre un agrandissement de la zone des protons aromatiques des produits des deux synthèses. Sur le spectre du HBQS de la 1^{ère} synthèse en 1, les pics en bleus correspondent au produit majoritaire soit à ceux de l'isomère para du HBQS.

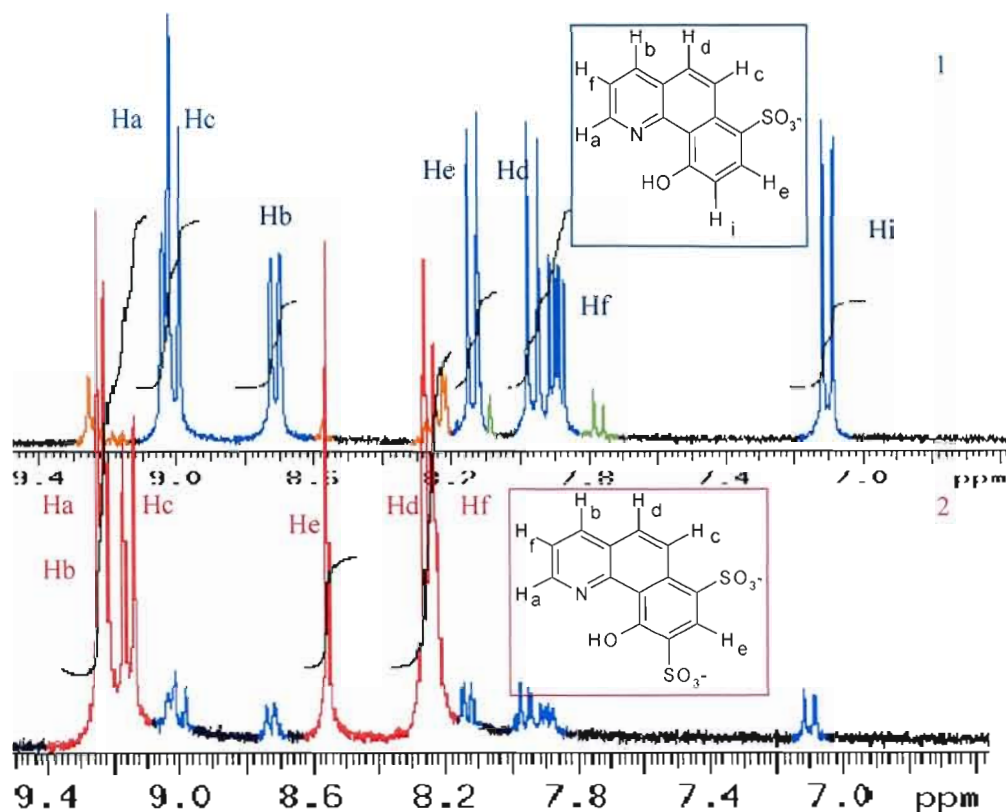


Figure 3.1: Agrandissements des spectres RMN¹H du HBQS de la 1^{ère} synthèse en 1 et de la 2^e synthèse en 2.

Des pics additionnels, en orange et en vert, démontrent la présence d'autres produits lesquels pourraient correspondre à d'autres isomères. Sur la même figure, en 2, le spectre du produit de la 2^e synthèse est placé sous le spectre du premier produit de manière à ce que les déplacements chimiques sur le premier spectre et le deuxième spectre soient alignés. Les pics majoritaires, en rouge, sur le spectre du produit de la deuxième synthèse ne correspondent plus à l'isomère para malgré que des pics minoritaires (en bleu) indiquent la présence minoritaire de cet isomère. Selon l'interprétation des pics obtenus pour le spectre de la 2^e synthèse, le produit majoritaire est le produit bis-sulfonate en ortho et en para soit 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7,9-disulfonate. Le singulet à 8,55 ppm, H_e, intègre pour un proton et il serait attribuable au seul proton du noyau phénolique. Tandis que les multiplets à 8,2 et 9,2 intègrent pour 2 et 3 protons respectivement, soit les protons du noyau central et ceux du noyau pyridine. Sur le spectre 1 de la figure 3.1, les pics en orange se superposent à ceux des pics en rouge du

produit bis-sulfonate du spectre 2 donc il est logique de croire que l'un des produits minoritaires de la 1^{ère} synthèse est l'isomère bis-sulfoné. Quant aux pics en vert sur le spectre 1, leurs déplacements pourraient être attribués à l'isomère ortho. Dans la littérature, des valeurs (*voir* appendice A.1) de 7,8 et 8,1 ppm sont mentionnées pour les protons du noyau phénolique de l'isomère ortho ce qui correspond bien avec les déplacements mesurés (McCleskey et al., 2006). Les autres protons ne sont pas identifiables puisqu'ils ont des déplacements qui se rapprochent de ceux des protons du produit bis-sulfoné. Malgré cela, il est possible d'affirmer avec certitude que le produit majoritaire de la 2^e synthèse n'est pas l'isomère ortho vu l'absence des pics à 7,8 et 8,1 ppm et la présence de celui à 8,55 ppm.

Un prélèvement du milieu réactionnel a été fait après 4½ heures de réaction lors de la 2^e synthèse et le spectre RMN¹H du produit a été fait. Les résultats montrent, à la figure 3.2 en 2, que le produit à cette étape de la réaction a une composition isomérique presque identique à celle du produit final de la 1^{ère} synthèse en 1. Cette observation crée un intérêt puisque la méthode de synthèse employée présente des avantages par rapport à celles publiées par d'autres auteurs (McCleskey et al., 2006 ; Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001). En effet, la manipulation avec l'acide chlorosulfonique est plus facilement réalisable que celle utilisant l'acide sulfurique fumant et donne des résultats équivalents. De plus, le temps de réaction peut être réduit d'un facteur de cinq en maintenant la réaction à température ambiante. Il n'y a pas eu d'optimisation de la synthèse car cela ne cadrerait pas dans les objectifs du projet. L'application de cette méthode de synthèse pour la fabrication commerciale du produit permettrait de réduire les coûts de fabrication de façon significative.

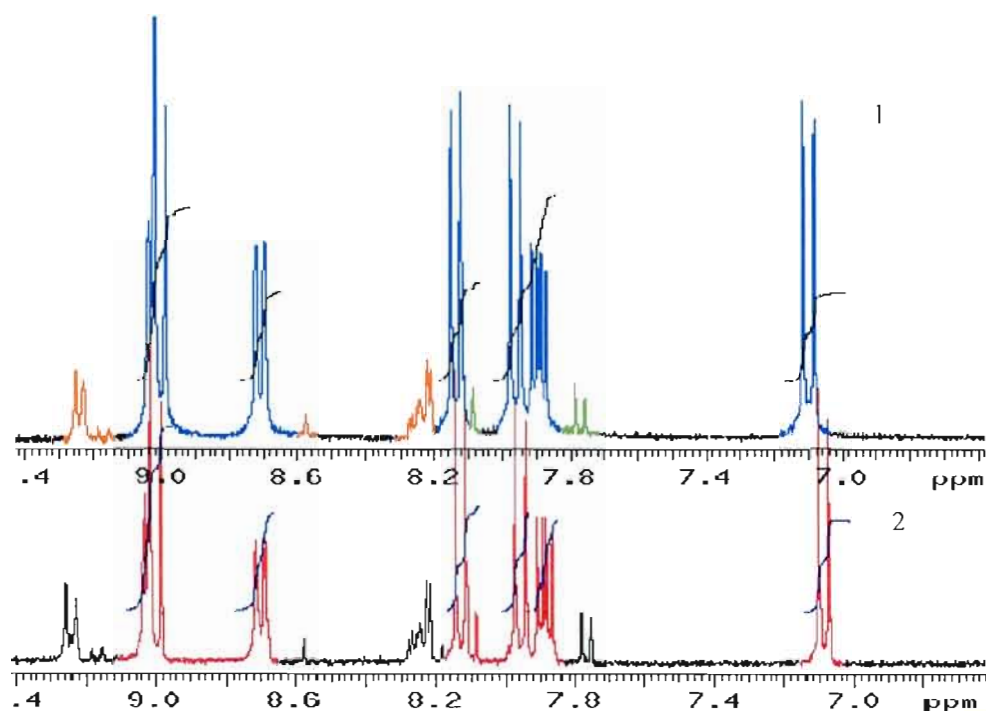


Figure 3.2: Agrandissements des spectres RMN¹H du HBQS de la 1^{ère} synthèse en 1 et de la 2^e synthèse après 4h30 de réaction en 2.

Le spectre RMN¹H du produit de départ, le HBQ, a été mesuré dans le CDCl₃. Il est présenté dans l'appendice A ainsi que le tableau des déplacements chimiques.

3.1.2 Caractérisation IR

Le spectre infra-rouge du HBQS montre les bandes caractéristiques de noyaux aromatiques. Une attention plus particulière est portée sur les bandes autour de 1200 cm⁻¹ puisque c'est la région des elongations de l'acide sulfonique présent sur la molécule. Le spectre infra-rouge du HBQS présente des bandes correspondant aux elongations asymétriques du sulfone, elles forment une large bande de grande intensité entre 1250 et 1140 cm⁻¹. Les elongations symétriques entre 1070 et 1030 cm⁻¹ sont également intenses mais les bandes sont plus fines (Socrates, 1994).

La mesure en infra-rouge a permis de confirmer l'identité du produit synthétisé. La présence du groupement sulfonate qui n'était pas visible sur le spectre RMN est maintenant observée. D'ailleurs, cette région du spectre diffère légèrement entre le produit mono-sulfoné et bis-sulfoné. Sur le spectre (figure 3.3) du produit mono-sulfoné, le pic le plus intense de la bande est à 1157 cm^{-1} , pic qui n'est qu'un épaulement dans le bis-sulfoné (figure 3.4). Celui-ci a son pic le plus intense à 1185 cm^{-1} .

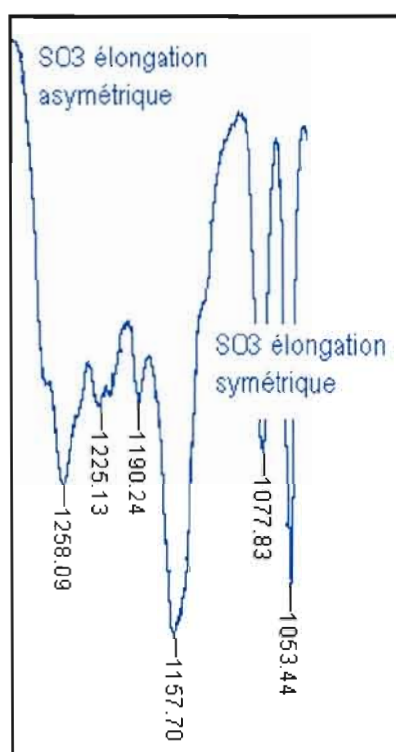


Figure 3.3: Section du spectre infra-rouge entre 1260 et 1050 cm^{-1} du HBQS de la 1^{ère} synthèse (pastille de KBr).

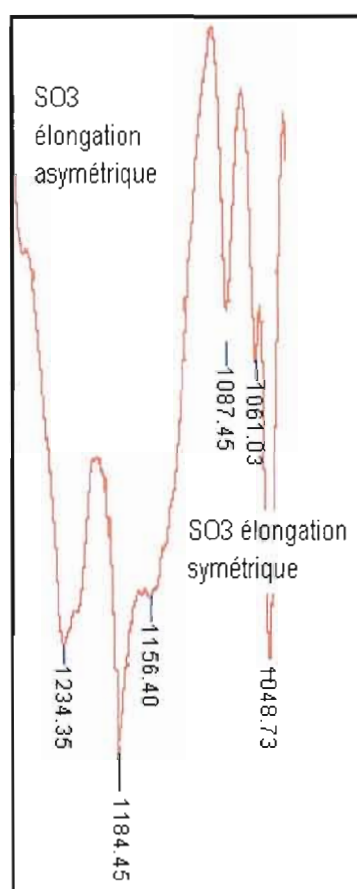


Figure 3.4: Section du spectre infra-rouge entre 1260 et 1050 cm^{-1} du HBQS de la 2^e synthèse (pastille de KBr).

Trois régions du spectre infra-rouge présentent des bandes pour le groupement hydroxyle du phénol. Autour de 3400 cm^{-1} et 1000 cm^{-1} ce sont les elongations OH et C-OH respectivement. Ces bandes sont retrouvées dans le spectre du HBQS à la figure 3.5. Entre 720 et 600 cm^{-1} se situent les déformations hors plan du groupement OH dans le phénol (Lambert et al., 1998).

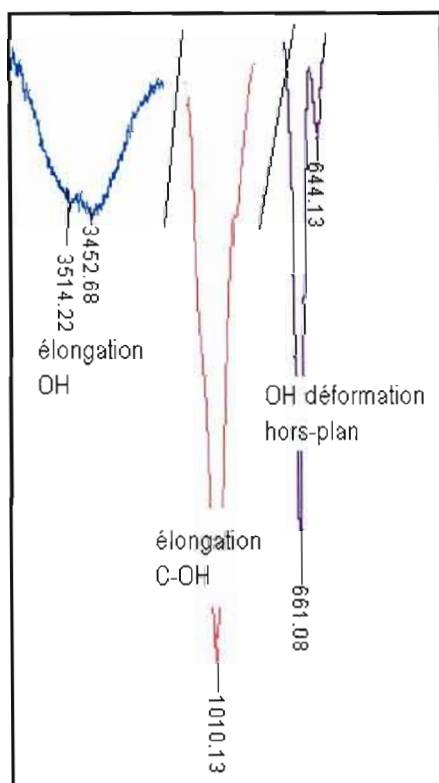


Figure 3.5: Trois sections du spectre infra-rouge entre 3600 et 3400 , 1020 - 1000 et 670 - 640 cm^{-1} du HBQS (pastille de KBr).

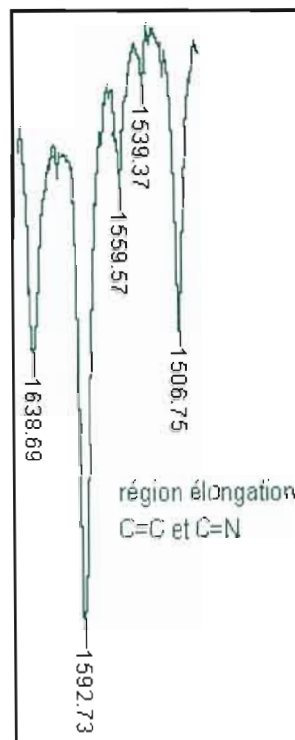


Figure 3.6: Section du spectre infra-rouge entre 1640 et 1500 cm^{-1} du HBQS (pastille de KBr).

Dans la région 1600 à 1500 cm^{-1} se trouvent les elongations carbone-carbone et carbone-azote des cycles aromatiques et de la pyridine. Sur la figure 3.6, la présence d'une bande intense à 1592 cm^{-1} est caractéristique de l'elongation d'un cycle pyridinique (Silverstein et Webster, 2007).

3.2 Propriétés spectroscopiques des chromophores

Les autres chromophores mentionnés au chapitre 1 (paragraphe 1.6.2.1) ne seront pas détaillés dans ce document. Le HPHBQ n'a pas été étudié puisqu'il aurait été considéré seulement dans le cas où aucun des deux autres chromophores n'aurait été adéquat. De plus, il requerrait une synthèse plus complexe que le HBQS. Le H-Resorcinol a été étudié mais il n'a seulement démontré qu'une faible intensité de fluorescence. En présence de béryllium, l'intensité obtenue ne varie presque pas et la longueur d'onde d'émission demeure la même tel que présenté à la figure 3.7.

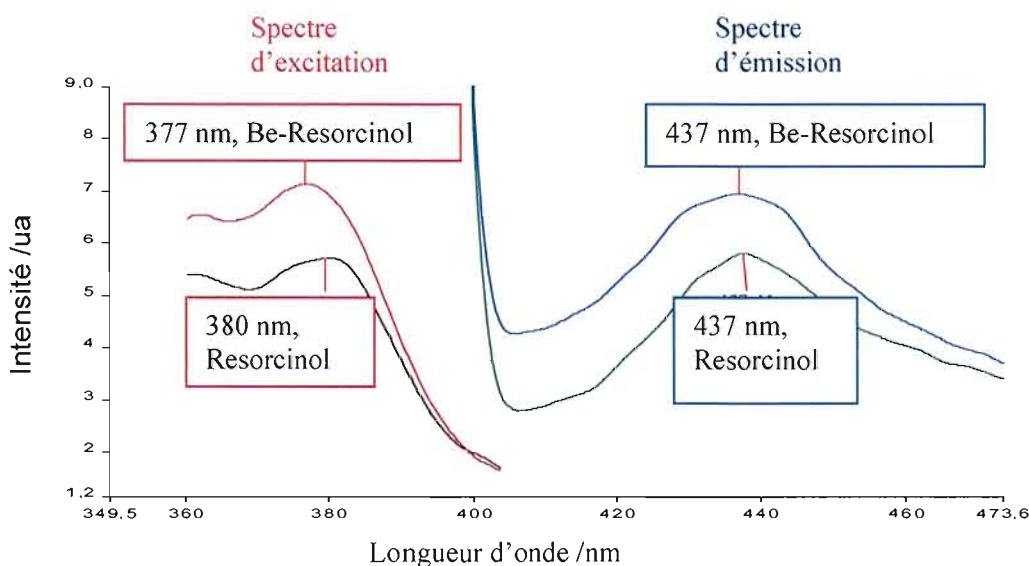


Figure 3.7: Spectre d'excitation et d'émission du H-Resorcinol seul ou avec le Be (fluorimètre PerkinElmer).

La fluorescence du H-Resorcinol ne pourrait donc pas être distinguée du Be-Resorcinol, il serait donc nécessaire d'ajouter une étape d'extraction. À cette fin, des tests ont été effectués sur un HPLC avec détection UV tel que mentionné par Hoshino et al. (Hoshino et al., 1996). L'appareil HPLC a été couplé avec deux détecteurs placés en série, d'abord un détecteur de fluorescence suivi d'un détecteur UV. Sur le chromatogramme obtenu suite à la détection en fluorescence, il n'y avait aucun pic attribuable au H-Resorcinol ni au complexe avec le Be.

Toutefois, le chromatogramme obtenu à partir de la détection UV a permis d'établir que le H-Resorcinol et le Be-Resorcinol ont des propriétés d'absorbance comme le montre la figure 3.8. L'élution du H-Resorcinol prend environ 15 minutes. Avec l'ajout de Be, il y a apparition d'un pic à 14 minutes qui augmente avec la concentration de Be. Les résultats du HPLC-UV correspondent à ceux publiés par Hoshino et al. (Hoshino et al., 1996). Le complexe formé entre le Be et le H-Resorcinol est détectable en absorbance et non en fluorescence étant donné l'absence de pics. Cela confirme que le H-Resorcinol ne possède pas les propriétés de fluorescence recherchées pour la détermination du Be.

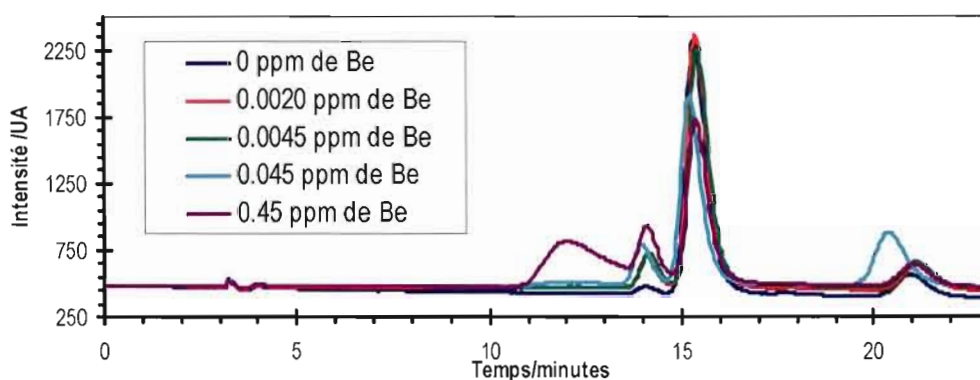


Figure 3.8: Chromatogramme (HPLC-UV) du Be-Resorcinol à différentes concentrations de Be.

L'autre chromophore étudié pour ces propriétés fluorescentes est le HBQS lequel présente une fluorescence non négligeable. Le HBQS possède une émission de la fluorescence dans le visible à une longueur d'onde de 565 nm. Des essais à différentes longueurs d'onde d'excitation montrent que la longueur d'onde d'émission de fluorescence ne varie pas. Cela démontre bien que la bande est attribuable à l'émission du HBQS et non à une raie de second ordre. Sur la figure 3.9, l'intensité maximale est atteinte avec une excitation à 300 nm. Toutefois à cette longueur d'onde d'excitation, une bande de second ordre qui se situe à 600 nm chevauche partiellement le pic d'émission et cause ainsi une interférence spectroscopique. L'excitation à 365 nm est une meilleure option puisqu'elle fournit une intensité d'émission comparable à l'excitation à 300 nm sans qu'il y ait d'interférences spectrales causées par la bande de deuxième ordre.

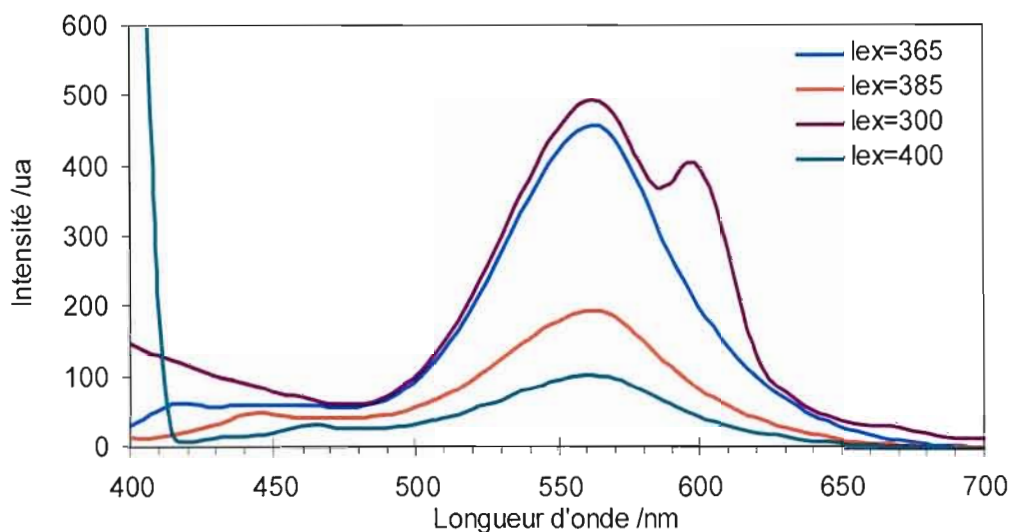


Figure 3.9: Fluorescence du HBQS à différentes longueurs d'onde d'excitation (Hitachi F2000, $\lambda_{em}=565$ nm).

Le déplacement de Stokes est l'écart entre les longueurs d'onde du pic d'absorption (excitation) et celui de la fluorescence (émission). Ce déplacement est plus élevé chez le HBQS que celui habituellement retrouvés en fluorescence chez les molécules conventionnelles. L'excitation et l'émission sont généralement séparées par quelques dizaines de nanomètres. Le HBQ, produit duquel est obtenu le HBQS, est un réactif utilisé dans les filtres optiques en photographie depuis longtemps et plus récemment, des applications de sonde pour les cinétiques enzymatiques ont été développées (Sytnik et del Valle, 1995 ; Roberts et al., 1995). Cette molécule a donc fait l'objet de nombreuses recherches. Certaines d'entre elles montrent que le HBQ procède à un transfert de proton intramoléculaire à l'état excité (ESIPT) entre l'oxygène et l'azote, formant les tautomères céto-énol (Sytnik et Kasha, 1994 ; del Valle et Catalan, 2001). Comme le montre la figure 3.10, l'excitation est produite sur la forme énol puis à l'état excité il y a rapidement un transfert de proton pour former le tautomère céto excité. Une durée de quelques centaines de femtosecondes a été rapportée pour ce processus (Chou et al., 2001). Ce qui est plus rapide que l'émission de la fluorescence qui est produite entre 10^{-10} et 10^{-7} seconde (Valeur, 2004). Le tautomère céto ne peut pas procéder au transfert de proton en sens inverse puisque la

réaction est endothermique. Ainsi, la désactivation ne pourra survenir que par le retour à l'état fondamental du tautomère céto qui produira l'émission de lumière, la fluorescence (Chou et Wei, 1996)

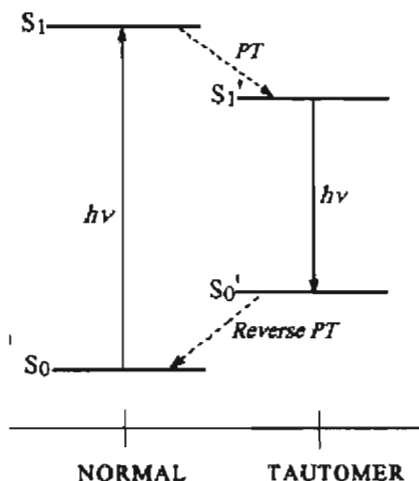


Figure 3.10: Diagramme d'énergie du transfert de proton intramoléculaire à l'état excité du HBQ (tiré de Sytnik, Alexsandr et Michael Kasha. 1994. «Excited-state intramolecular proton transfer as a fluorescence probe protein binding-site static polarity». *Proceedings of the national academy of sciences*, vol. 91, p. 8627-8630).

Ensuite, il y a le transfert de proton à l'inverse (forme céto vers la forme énol). Ce processus qui a été décrit pour le HBQ est logiquement aussi valable pour le HBQS qui possède la même configuration moléculaire pour le transfert de proton intramoléculaire. Le déplacement vers des longueurs d'onde d'émission élevées est donc explicable par le plus faible gap énergétique entre l'état excité du tautomère céto et son état fondamental par rapport au gap de la forme normale.

Des valeurs de longueur d'onde d'émission du HBQS, légèrement différentes de celles qui ont été mesurées, sont mentionnées dans la littérature notamment de 575 et de 590 nm (Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001; Agrawal et al., 2006). Une raison à ces variations peut, entre autres, provenir de la calibration du monochromateur de l'appareil

utilisé. La figure 3.11 montre les spectres de fluorescence d'une même solution de HBQS mais mesurée dans deux fluorimètres différents : le Hitachi F2000 avec lampe au Xénon et le USB4000 de OceanOptics, avec une DEL à 380 nm. Il est évident que l'intensité maximale d'émission est décalée, elle est à 592 nm avec l'USB4000 et à 565 nm avec l'appareil Hitachi. L'émission à 592 nm est semblable à la valeur rapportée de 590 nm par Agrawal et al. dont l'instrumentation de mesure était un appareil d'Ocean Optics, le USB2000 avec une source DEL à 380 nm. Par ailleurs, la valeur de 575 nm rapportée par Matsumiya et al., a été mesurée avec un spectromètre de luminescence d'Aminco-Bowman également muni d'une lampe au Xénon.

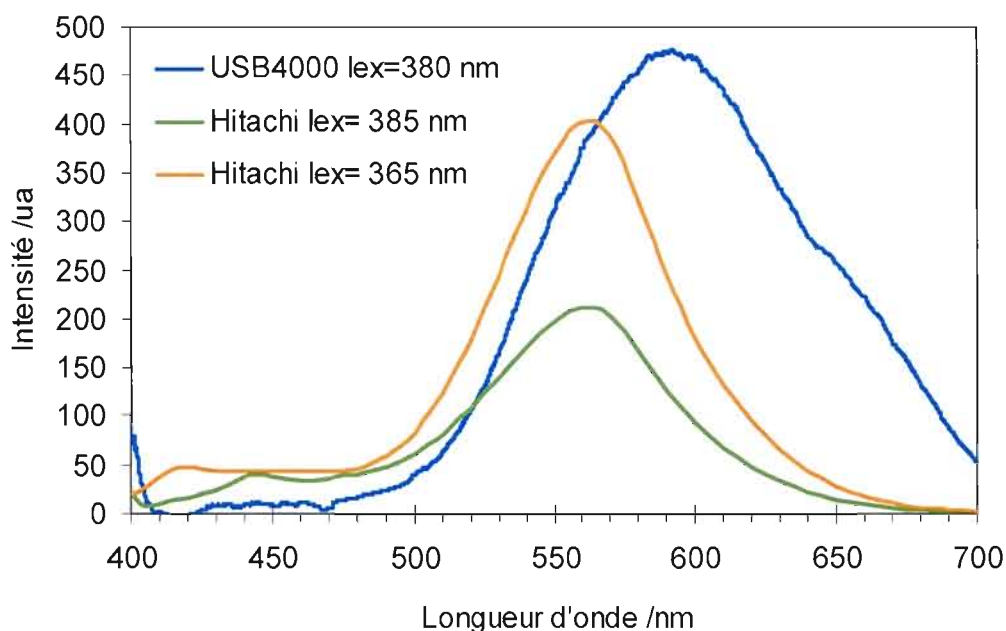


Figure 3.11: Spectre d'émission du HBQS mesuré par deux fluorimètres.

La réponse des instruments influence aussi grandement le spectre de fluorescence et les intensités pour une même concentration peuvent être variables. L'excitation à 365 ou 385 nm avec le Hitachi ne permet pas d'obtenir une intensité aussi élevée que sur le USB4000 dont l'excitation est à 380 nm.

Un autre facteur qui peut causer une variation dans la longueur d'onde de l'émission est l'isomère principal du HBQS retrouvé dans la solution mesurée. En effet, la comparaison des spectres de fluorescence, à la figure 3.12, montre un décalage de 15 nm entre la longueur d'onde d'émission maximale des deux produits obtenus lors des deux synthèses. Le produit de la 2^e synthèse émet à 550 nm alors que celui de la première émet à 565 nm. Le produit émettant à 550 nm donne également une intensité de fluorescence beaucoup plus grande dans les mêmes conditions.

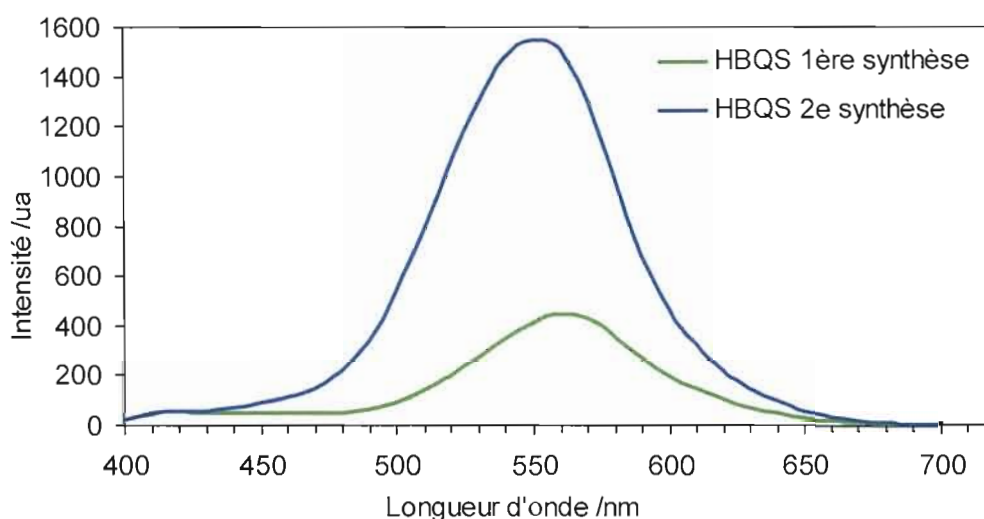


Figure 3.12: Spectre de fluorescence du HBQS de la 1^{ère} et 2^e synthèse (Hitachi F2000, λ_{ex} =365 nm).

Tel que mentionné précédemment, le produit de la 1^{ère} synthèse contient une proportion majoritaire de l'isomère para alors que celui de la deuxième synthèse une majorité de bis-sulfoné. Afin de tenter une explication, un parallèle a été fait entre les résultats d'une étude portant sur l'effet de différents substituants sur le HBQ et les observations faites sur le HBQS. Dans l'étude, il a été montré que l'ajout de substituant sur le HBQ influence l'émission (Chen et al., 2006). En ajoutant un groupement électro-attracteur sur le phénol du HBQ, tel que le cyanure, dans une orientation en para, il y a une diminution de la longueur d'onde d'émission qui passe de 635 nm à 605 nm. L'ajout d'un deuxième cyanure en ortho du premier, formant un phénol bis-substitué (comme la configuration du HBQS bis-sulfoné),

a causé un plus grand décalage de la longueur d'onde d'émission par rapport au HBQ qu'en présence d'un seul (635→605→570 nm). Cela s'explique par la baisse du niveau d'énergie de l'orbitale HOMO en présence d'un substituant électro-attracteur (Chen et al., 2006). L'augmentation du gap énergétique qui en résulte amène un déplacement vers des longueurs d'onde plus courtes. Le sulfonate étant aussi un groupement électro-attracteur, le même phénomène est observé pour le HBQS soit que l'espèce mono-sulfonée a une longueur d'onde d'émission supérieure à celle qui est bis-sulfonée.

3.2.1 Stabilité du chromophore HBQS

La fluorescence de la solution de HBQS a été mesurée dans un intervalle de temps afin de vérifier sa stabilité à long terme. La solution était conservée dans un contenant fermé et ambré. La figure 3.13 montre les spectres obtenus pour la même solution qui a été mesurée 5 fois en l'espace de 2 ans.

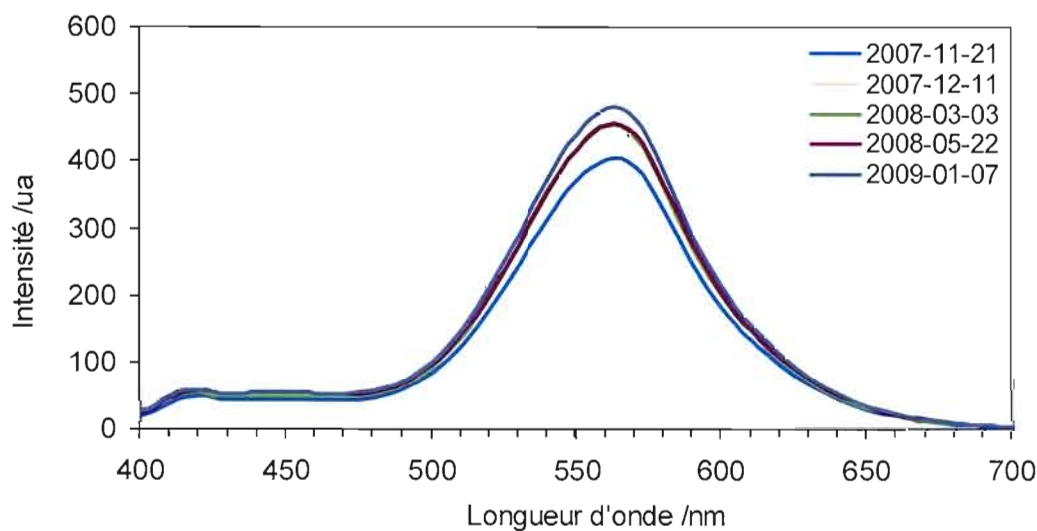


Figure 3.13: Spectre d'émission d'une solution de HBQS mesurée à différents moments (Hitachi F2000, λ_{ex} =365 nm).

La première mesure a été prise dans la journée même de la préparation ce qui pourrait expliquer la grande différence par rapport aux autres mesures. Toutefois, entre 400 et 480 nm, l'intensité des cinq solutions est pratiquement la même. La solution est suffisamment stable pour être conservée, de façon appropriée, pendant deux ans. Par contre, le réactif est photosensible. Il ne peut pas être utilisé pour effectuer des mesures en continu puisqu'une décroissance de la fluorescence se produit comme montré à la figure 3.14. En effet, une perte de 20 % du signal est enregistrée après une heure d'exposition en continu à la source.

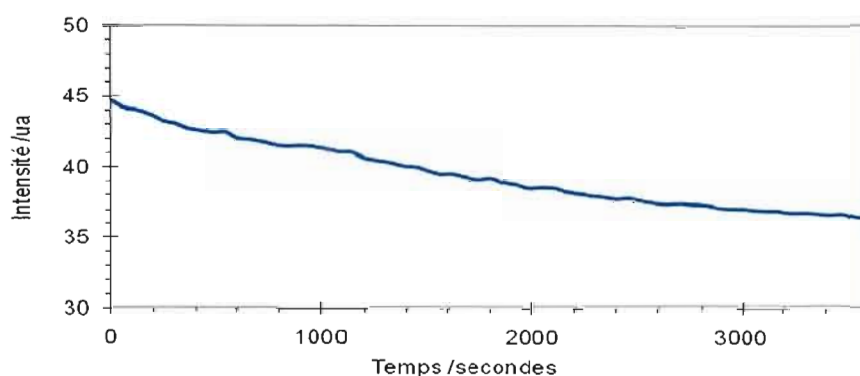


Figure 3.14: Variation de l'intensité d'émission en mesure continue du HBQS à une concentration de 56,4 µM (Hitachi, λ_{ex} = 385 nm et λ_{em} = 475 nm).

Afin de vérifier s'il se produit une inhibition de la fluorescence due à la quantité de chromophore dans la solution, des solutions de HBQS à différentes concentrations ont été mesurées. Les résultats sont présentés à la figure 3.15. Il a été observé qu'au-delà de 150 µM de HBQS, l'intensité cesse d'augmenter. L'intensité du HBQS à 150 µM est la même qu'à 300 µM. Des concentrations plus élevées ne font qu'abaisser l'intensité de la fluorescence. Des processus désexcitatifs peuvent se produire en présence d'une quantité élevée de molécules en solution. Leur nombre élevé augmente les probabilités de collisions intermoléculaires. Ces collisions permettent la dissipation de l'énergie absorbée sans qu'il y ait d'émission de photons. Il peut également se produire une absorption des photons émis par les autres molécules du milieu ce qui se traduit par une baisse apparente de l'émission de fluorescence.

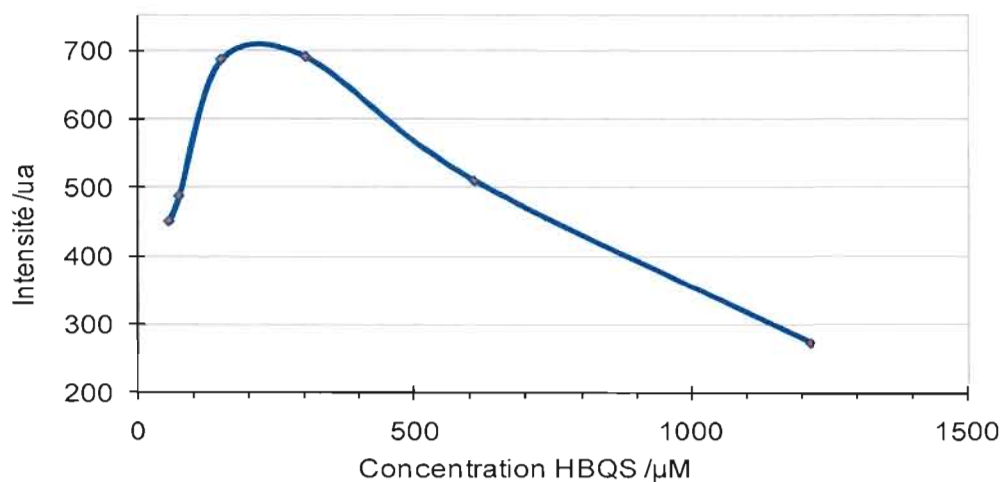


Figure 3.15: Intensité d'émission à $\lambda=563$ nm du HBQS à différentes concentrations (Hitachi, $\lambda_{\text{ex}}=365$ nm).

3.2.3 Fluorescence du complexe Be-HBQS

L'émission du Be-HBQS est observée à 475 nm. La mesure du spectre d'excitation du complexe Be-HBQS révèle trois pics d'absorption : 285, 325 et 385 nm. Le maximum observé, à la figure 3.16, est à 285 nm toutefois cette longueur d'excitation va donner lieu à un pic de second ordre à 570 nm. Bien que cette valeur soit éloignée de 100 nm du maximum d'émission du pic du complexe, elle est très près du maximum du HBQS. L'excitation à 385 nm est donc celle qui est choisie pour les mesures du complexe. L'émission se produit à 475 nm ce qui donne un déplacement de Stokes de près de 100 nm.

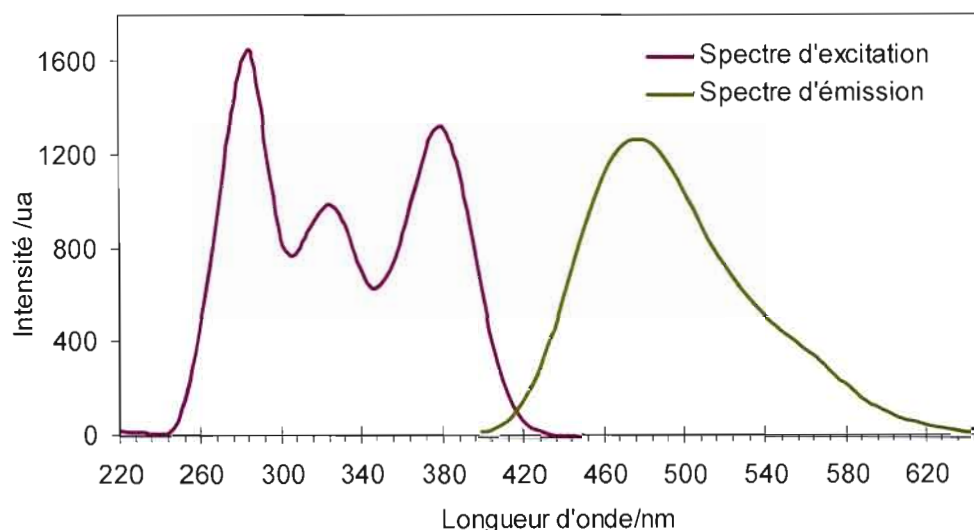


Figure 3.16: Spectre d'excitation et d'émission du complexe de Be-HBQS avec [Be]= 8ppb (Hitachi).

L'ajout de béryllium au HBQS a permis d'observer une spécificité de la fluorescence. Cette spécificité devrait permettre de quantifier le Be en mesurant l'intensité à 475 nm dans la solution sans procéder à l'extraction du complexe. En effet, la longueur d'onde d'émission du HBQS en présence de Be (complexe) à 475 nm est décalée par rapport à celle du HBQS seul à 565 nm, comme montré à la figure 3.17. Ce décalage peut être expliqué à l'aide du mécanisme ESIP (Excited-State Intramolecular Proton Transfer) présent dans le HBQS. Afin de corroborer cette théorie, les résultats obtenus ont été comparés avec une étude de la fluorescence du 10-méthoxybenzo[h]quinoline (MBQ) (Chou et Wei, 1996). Cette molécule se distingue du HBQ par le remplacement du proton de l'hydroxyle par un méthyle ainsi il n'y a plus de transfert de proton intramoléculaire possible. L'émission du MBQ a été obtenue à 390 nm par rapport à 585 nm pour le HBQ (Chou et Wei, 1996). Le remplacement de la fonction alcool par un groupement *méthoxy* cause une perturbation de l'état électronique à 4 niveaux présents chez le HBQ à l'état excité dû à l'absence de transfert de proton. Ainsi, seul un état à 2 niveaux ordinaire régit l'énergie absorbée et libérée. Comme il a été vu précédemment à la figure 3.10, le gap énergétique entre les 2 niveaux dit de l'espèce normale est supérieur à celui du tautomère céto d'où la diminution de la longueur d'onde émise. De la même manière, la chélation du Be remplace le proton de l'hydroxyle sur le HBQS ce qui

annule le transfert de proton intramoléculaire, avec comme résultat la diminution de la longueur d'onde du complexe par rapport au HBQS est observée.

L'émission du complexe formé avec les deux réactifs synthétisés a été comparée sur la figure 3.17. D'après les observations, la bande d'émission du HBQS de la 2^e synthèse est nettement plus large que celle du HBQS de la 1^{ère} synthèse. Cela entraîne un chevauchement de pics entre le complexe et le HBQS provenant de la 2^e synthèse plus important que l'autre paire. Cet important chevauchement risque de causer des difficultés lors de mesures de basse concentration de Be. De plus, le HBQS de la 2^e synthèse risque de réduire la sensibilité des mesures de complexe puisque la fluorescence native de ce HBQS à 475 nm est très élevée. Le HBQS bis-sulfonate n'a donc pas été investigué davantage.

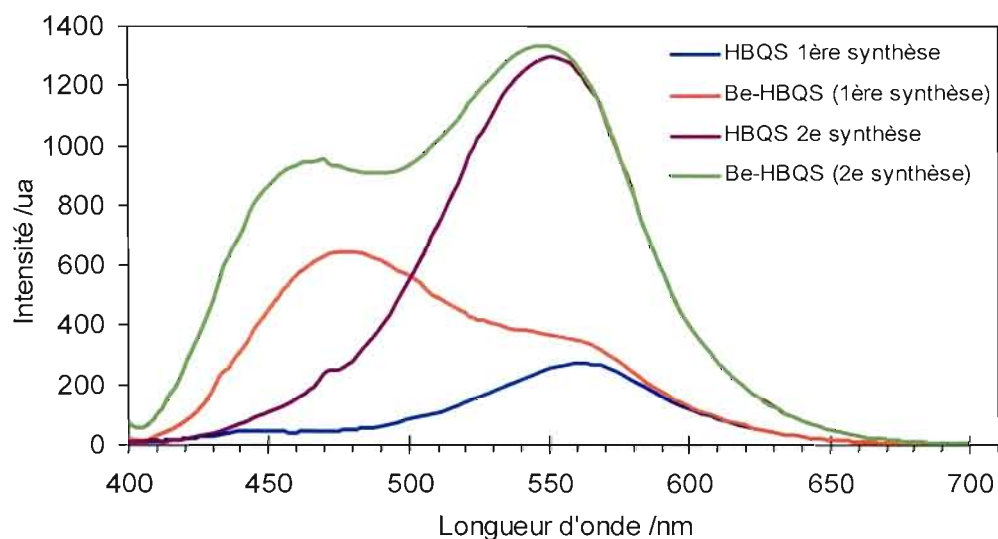


Figure 3.17: Fluorescence du complexe Be-HBQS (5 ppb) et du HBQS seul provenant des deux synthèses. (Hitachi, λ_{ex} = 385 nm).

La mesure de différentes concentrations de Be (figure 3.18) donne lieu à une augmentation de la réponse en fonction de cette concentration. Les faibles concentrations de Be ne produisent pas un signal suffisant pour former un pic de fluorescence se distinguant nettement de celui du HBQS. Le complexe forme plutôt un épaulement. La présence de cet épaulement augmente l'étendue de la bande du HBQS. La longueur d'onde d'émission à

laquelle sera prise l'intensité du complexe devient très importante dans les basses concentrations afin d'éviter des erreurs sur la mesure. Par exemple, la courbe pour la concentration de 0,5 ppb montre une croissance continue ; il n'y a pas de dépression entre les deux bandes. Ainsi, l'intensité prise à 485 nm donnera un résultat assurément supérieur à celle prise à 475 nm et cela conduira à une surévaluation de la teneur en Be d'un échantillon.

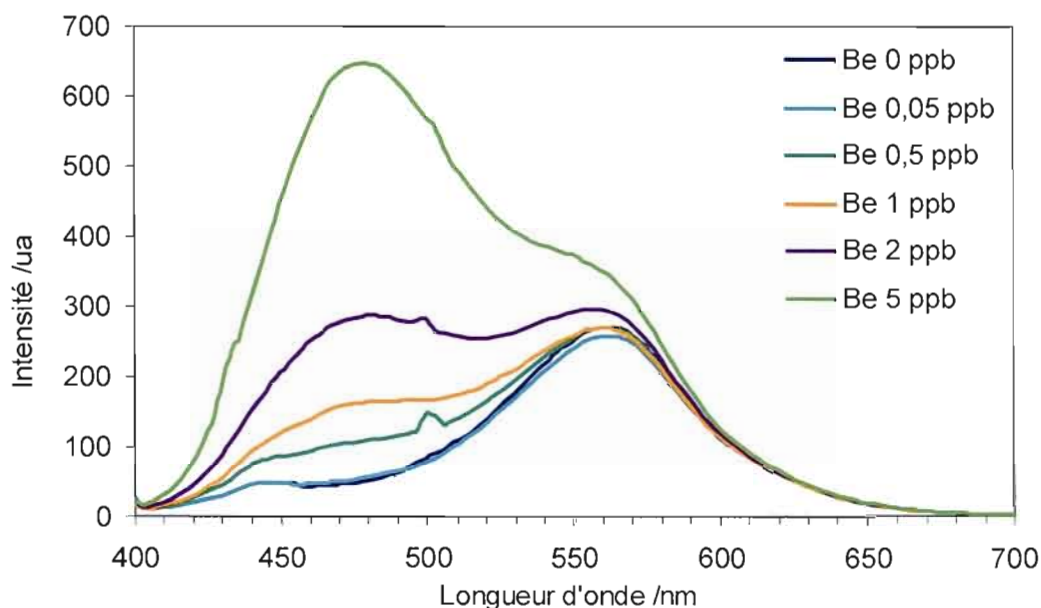


Figure 3.18: Courbe de fluorescence du complexe Be-HBQS à différentes concentrations (Hitachi, $\lambda_{ex}=385$ nm).

Il a été établi que l'intensité d'émission du complexe à 475 nm en fonction de la concentration de Be était linéaire avec des coefficients de détermination $> 0,990$. Une courbe d'étalonnage pour les basses concentrations de Be est présentée à la figure 3.19 ; le coefficient de détermination très près de 1 indique une linéarité élevée. La régression linéaire de l'étalonnage des hautes teneurs (2 à 40 ppb) donne une sensibilité légèrement plus basse mais un coefficient de détermination équivalent à celui des basses teneurs.

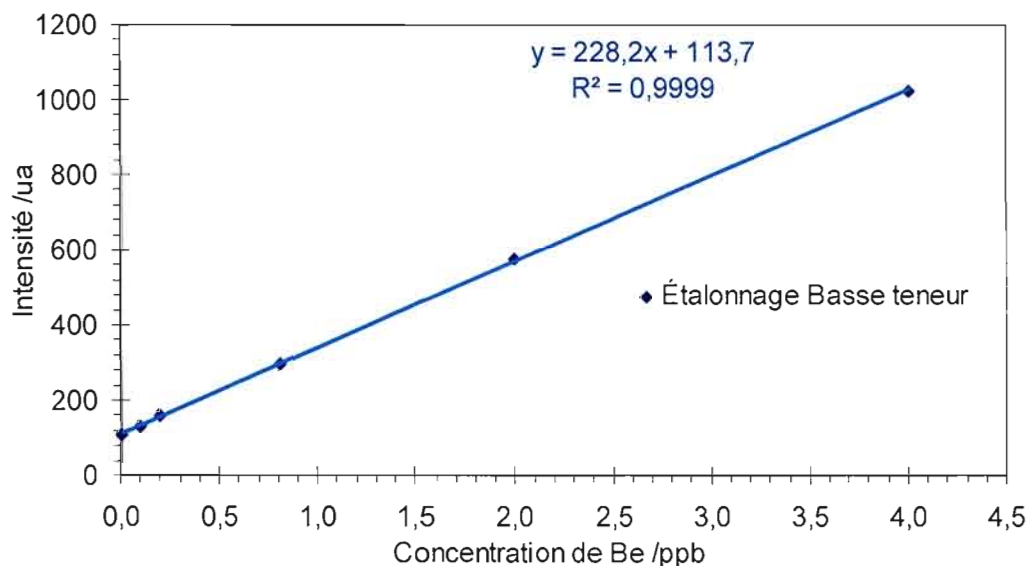


Figure 3.19: Courbe d'étalonnage du béryllium de 0 à 4 ppb.

La complexation du Be par le HBQS se produit instantanément (Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001). Des tests ont été effectués en mesurant une solution soit tout de suite après le mélange du Be avec le HBQS ou en laissant une période de temps s'écouler entre le mélange et la mesure. Les résultats, présentés à la figure 3.20, montrent que peu importe le moment de la mesure, l'intensité d'émission ne varie pratiquement pas, confirmant que la complexation est instantanée.

La rapidité de formation du complexe entre le Be et le HBQS témoigne d'une grande affinité entre les deux molécules. Il y a présence dans le HBQS d'une liaison hydrogène intramoléculaire forte. Pour le HBQ qui est très similaire au HBQS, l'énergie du lien hydrogène est environ de 50 kJ/mol alors que de façon générale elle est de < 33 kJ/mol pour les molécules conventionnelles. De plus, les distances entre les liaisons dans toute la molécule sont modifiées par la formation de ce lien hydrogène (Agrawal, Tonazzi et Cronin, 2007).

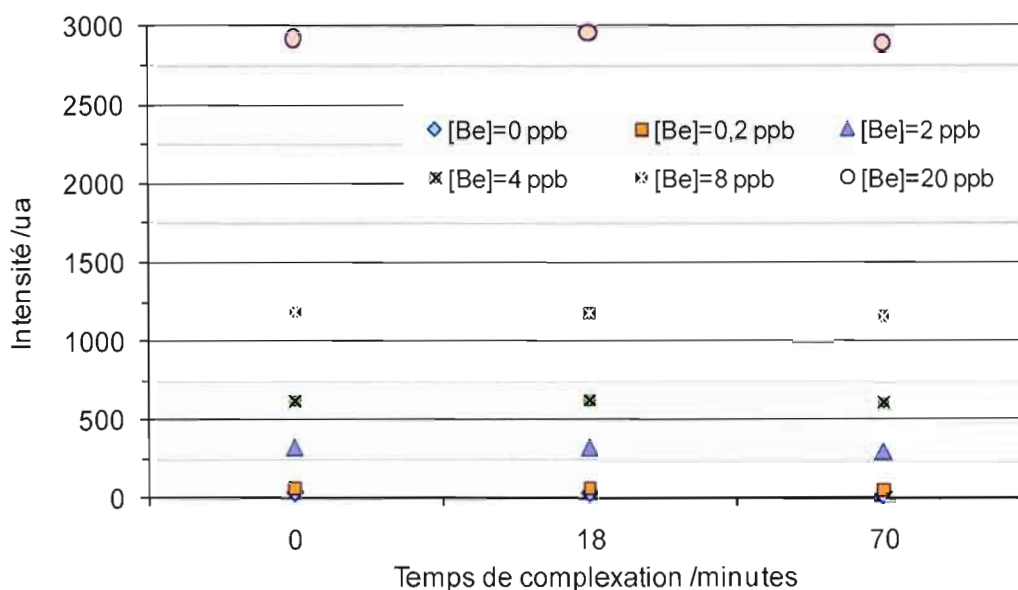


Figure 3.20: Variation de l'intensité de fluorescence en fonction du temps de réaction de complexation pour différentes concentrations de Be (Hitachi ; λ_{ex} = 385 nm et λ_{em} = 475 nm).

Cette implication globale crée une grande énergie de stabilisation dans cette configuration (Chou et Wei, 1996). La présence de la liaison intramoléculaire forte permet le déplacement de l'hydrogène vers l'hétéroatome le plus acide (O) pour permettre l'interaction du Be avec l'hétéroatome le plus basique (N) sans barrière énergétique. Et comme, la distance entre le N-H-O est plus courte que la somme des rayons de Van der Waals, cela forme un site aux dimensions idéales pour la complexation du Be qui possède un petit rayon atomique. Les dimensions sont comparables à celles observées dans d'autres complexes de Be (Agrawal Tonazzi et Cronin, 2007). La présence de la liaison hydrogène forte est la raison principale qui pousse la formation du complexe.

Tout comme le réactif, l'émission du complexe décroît dans le temps en exposition continue comme montré à la figure 3.21-1. Ceci suggère une décomposition probable du réactif et du complexe. L'intensité d'émission du complexe subit une perte de signal de 32 % après 1 heure d'exposition en continue. La perte pour le réactif seul était de 20 % pour la même période de temps. La décomposition du réactif a évidemment une incidence directe sur

le signal du complexe. Toutefois, il est possible que la diminution de la concentration de réactif due à sa décomposition crée également un équilibre défavorable au complexe, c'est-à-dire favorisant sa dissociation.

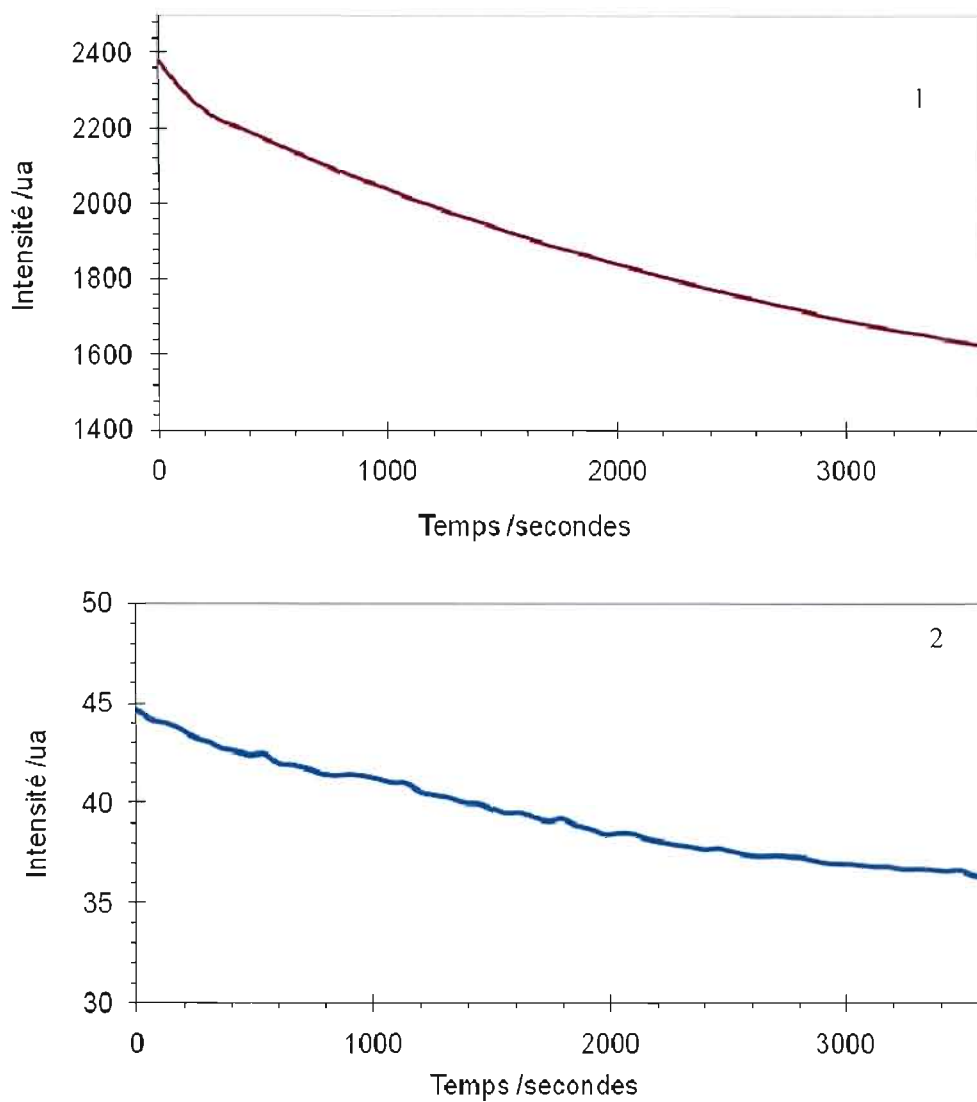


Figure 3.21: Variation de l'intensité d'émission en mesure continue du Be-HBQS à une concentration de 20 ppb en 1 et du HBQS en 2 (Hitachi ; λ_{ex} = 385 nm et λ_{em} = 475 nm).

3.2.4 Effet du pH

Étant donné que les mesures de fluorescence sont souvent influencées par le pH du milieu, il ne faut pas négliger la sensibilité du réactif et du complexe à l'acidité. La solution de détection est maintenue à pH 12,8 avec un tampon mais l'ajout de la solution de Be qui est dans un milieu acide pourrait avoir un impact sur le pH. L'intérêt d'étudier l'impact de l'acidité est également d'évaluer si la dissolution acide d'un échantillon de Be serait compatible avec cette méthode d'analyse (Coleman et al., 2004; Brisson et al., 2006b). Les deux méthodes qui sont utilisées, dépendant des teneurs en Be à mesurer, n'impliquent pas les mêmes volumes de solution. Pour les basses teneurs, le ratio du mélange entre les solutions de HBQS et de Be est de 4:1 tandis que pour les hautes teneurs le ratio est de 19:1. Ce qui signifie que les mesures dans les basses teneurs seront plus susceptibles d'être affectées par l'acidité de l'échantillon (de Be) puisque la proportion de solution acide y est plus élevée. Pour en mesurer l'impact, des solutions de HNO_3 à différentes concentrations ont donc été préparées ; 1, 5, 10, 20, 30, 40 et 50 % (v/v). L'effet de l'acidité sur le HBQS a été évalué sur le mélange de la solution de chromophore et de celles de HNO_3 selon les ratios établis de 19:1 et 4:1. Tandis que pour mesurer l'effet sur le complexe, une même concentration de Be a été ajoutée dans chacune des solutions de HNO_3 . Ces solutions ont ensuite été mélangées avec le HBQS pour les mesures selon les ratios de 4:1 et 19:1. Les résultats présentés à la figure 3.22 indiquent qu'une acidité élevée de la solution d'échantillon a un effet significatif sur la fluorescence du complexe.

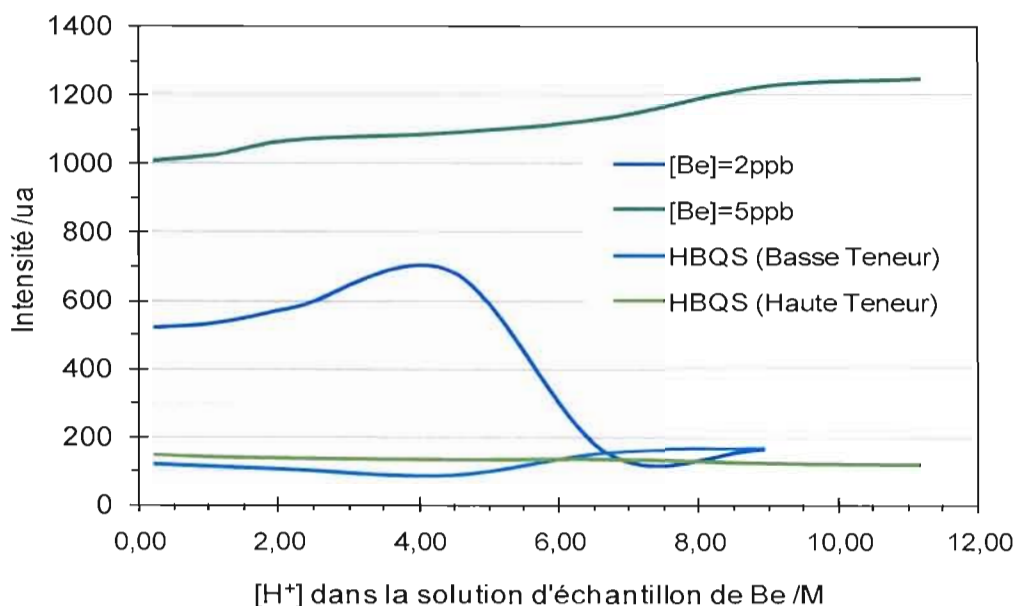


Figure 3.22: Variation de l'intensité de la fluorescence du HBQS et du complexe en fonction de la concentration de HNO_3 ajoutée à la solution de chromophore.

Pour le complexe à 2 ppb (basse teneur), l'intensité de la fluorescence croît avec l'augmentation de la concentration de H^+ jusqu'à ce que la concentration en acide atteigne environ 4 M puis elle diminue drastiquement jusqu'à donner un signal équivalent au HBQS. Il est probable que l'acidité trop élevée de la solution de Be brise l'effet du tampon et par le fait même, le complexe. Le comportement du HBQS selon le niveau d'acidité est l'inverse de celui du complexe c'est-à-dire que l'intensité du signal diminue (alors que celle que Be-HBQS augmente) pour ensuite augmenter en présence d'une concentration acide plus élevée que 4 M. Une hypothèse pour expliquer ce phénomène s'appuie sur une étude de la fluorescence du HBQ à différents pH (Chou et Wei, 1996). La figure 3.23 montre l'émission du HBQ, celle-ci est déplacée de 585 à 480 nm ($\Delta = 105$ nm) lorsque l'acidité de la solution de 1,0 M est augmentée à 8,27 M.

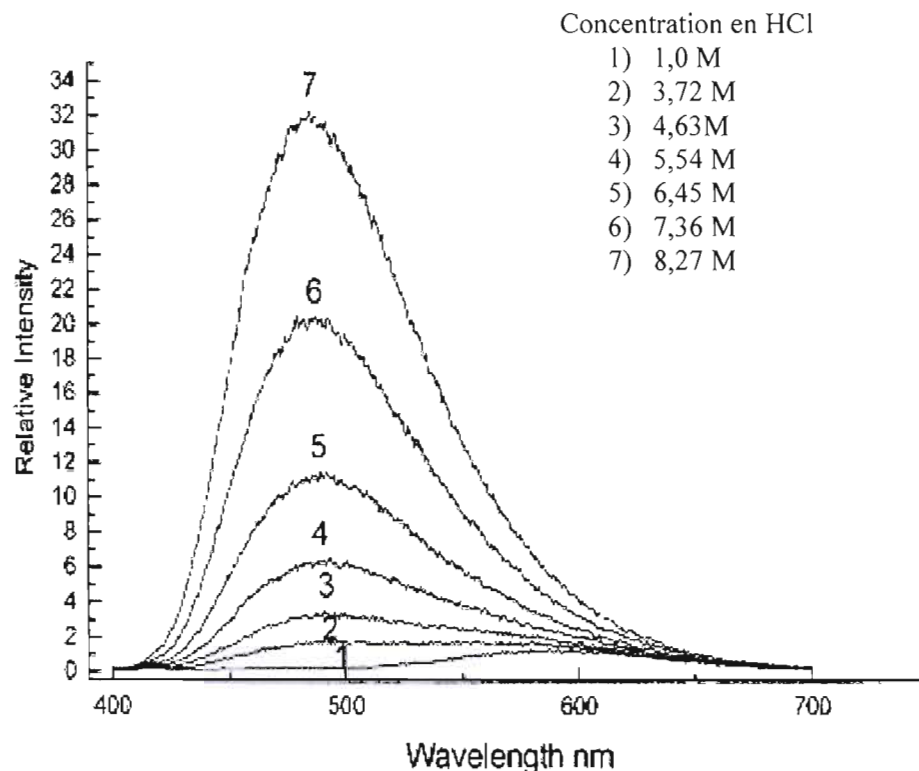


Figure 3.23 : Variation de l'émission du HBQ selon l'acidité de la solution (tiré de Chou, Pi-Tai et Ching-Yen Wei. 1996. «Photophysics of 10-hydroxybenzo[h]quinoline in aqueous solution». *Journal of physical chemistry*, vol. 100, p. 17059-17066.

L'émission du HBQS dans la solution alcaline est causée par la désexcitation radiative du tautomère céto (tel que vu à la section 3.2, page 46). Toutefois, une augmentation de l'acidité cause la protonation de l'azote sur la benzoquinoline, ce qui diminue la basicité de l'azote affectant ainsi directement le lien hydrogène fort entre N et O. La présence de ce lien hydrogène fort était un des facteurs clés pour la formation de tautomère à l'état excité. Donc, la diminution du pH de la solution de HBQS amène une diminution graduelle de l'émission par la baisse de tautomère formé. L'augmentation du signal observé à partir d'une concentration de 4 M de H^+ est due à l'émission de l'espèce complètement protonnée dont la désexcitation ne passe pas par un mécanisme ESIPT $S_1' \rightarrow S_0'$, mais simplement par $S_1 \rightarrow S_0$. Cette émission correspond à celle de l'espèce normale tel que montré précédemment à la figure 3.10. L'émission de l'espèce normale est produite à des longueurs d'onde plus courtes,

autour de 470 nm puisque son gap énergétique est plus grand. Étant donné que l'appareil utilisé mesure l'intensité de fluorescence produite entre 468 et 480 nm, l'augmentation de l'intensité pour le HBQS en milieu acide est observée. En effet, le O et le N étant protonés il n'est dès lors plus possible pour le Be d'interagir avec l'un ou l'autre sans barrière énergétique.

L'impact est beaucoup moins important pour les hautes teneurs puisque le volume de solution acide ne représente qu'un vingtième du volume total de la solution mesurée (versus un cinquième pour les basses teneurs). Même à une concentration de 11 M de H^+ , le signal du complexe ne diminue pas toutefois il augment légèrement.

Les tests effectués sur l'effet de l'acidité de la solution de Be démontrent que celle-ci influence l'intensité du signal mesuré. Le fait qu'il y ait une variation de l'intensité d'émission du complexe en fonction de l'acidité est surtout problématique s'il existe des différences de pH entre les solutions d'étalonnage et les échantillons. Il est donc nécessaire de définir la zone où la variation d'acidité de la solution de Be a peu d'effet sur le signal. L'écart de signal entre des solutions de Be à 2 ppb contenant 0,2 M et 1,1 M de H^+ est de 3 % dans les basses teneurs et de 2 % pour les hautes teneurs. Si la concentration en H^+ est augmentée à 2,2 M, l'écart passe à 12 % pour les basses teneurs et 6 % pour les hautes. La concentration en H^+ de la solution d'échantillon devrait être limitée à un maximum de 1 M pour éviter des variations de signal trop importantes.

3.3 Comparaison des réactifs, des cuvettes et des systèmes optiques

3.3.1 Comparaison entre le réactif commercial et synthétisé

Une solution de HBQS est commercialisée par Berylliant pour la détection du Be. À la figure 3.24, la fluorescence du réactif synthétisé dans ce projet a été comparée avec le produit commercial. Les deux réactifs possèdent la même longueur d'onde d'émission mais le

produit commercial montre une intensité d'émission plus élevée à 590 nm. Toutefois, l'intensité des deux réactifs à la longueur d'onde d'émission du complexe, à 475 nm, est comparable. Quant aux complexes formés avec l'un ou l'autre des réactifs, ils émettent à la même longueur d'onde avec une intensité similaire pour une même concentration de Be. Les deux réactifs sont donc considérés comme équivalents pour la complexation du Be.

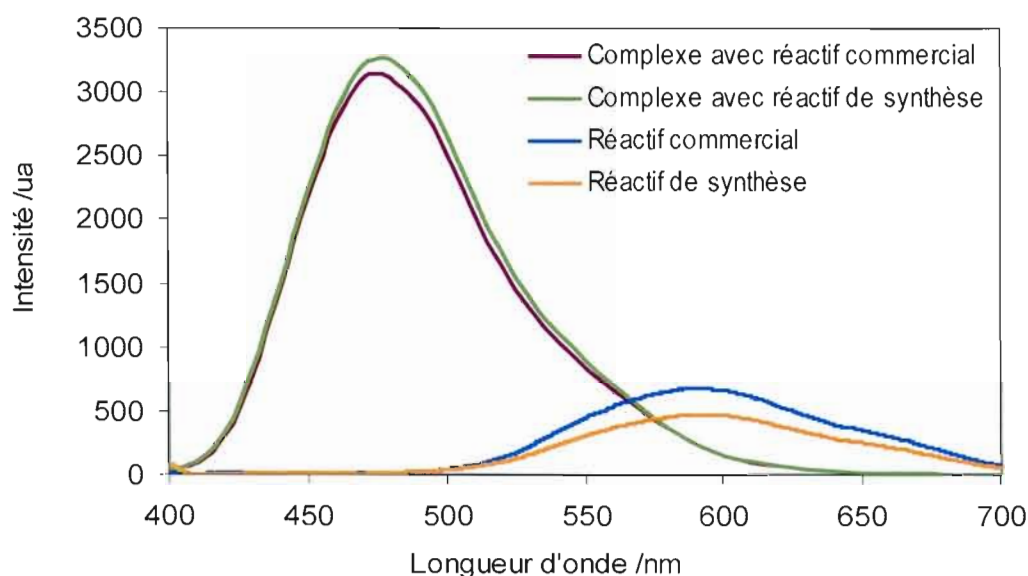


Figure 3.24: Fluorescence du HBQS provenant de la solution de Berylliant et de la synthèse (USB4000, λ_{ex} = 380 nm) et fluorescence du complexe, [Be] = 8 ppb avec les deux réactifs (Hitachi, λ_{ex} = 380 nm).

3.3.2 Comparaison de différentes cuvettes de fluorescence

Le développement d'une méthode portable requiert non seulement des procédés simplifiés mais également du matériel robuste, facilement utilisable sur le terrain. Les cuvettes de mesure en fluorescence sont généralement des cuvettes de verre ou de quartz qui sont fragiles et onéreuses. Les cuvettes de plastiques présentent un intérêt puisqu'elles coûtent environ 10 €/chacune, sont plus résistantes et elles sont jetables. Toutefois, la qualité optique du plastique est moindre, il est nécessaire de vérifier l'impact sur les mesures avant

de les utiliser. Le polyméthylmétacrylate (PMMA) donne un résultat presque identique au quartz tandis que le polystyrène (PS) ne permet pas une transmission optimale de la lumière dans les longueurs d'onde utilisées, comme le démontre la figure 3.25.

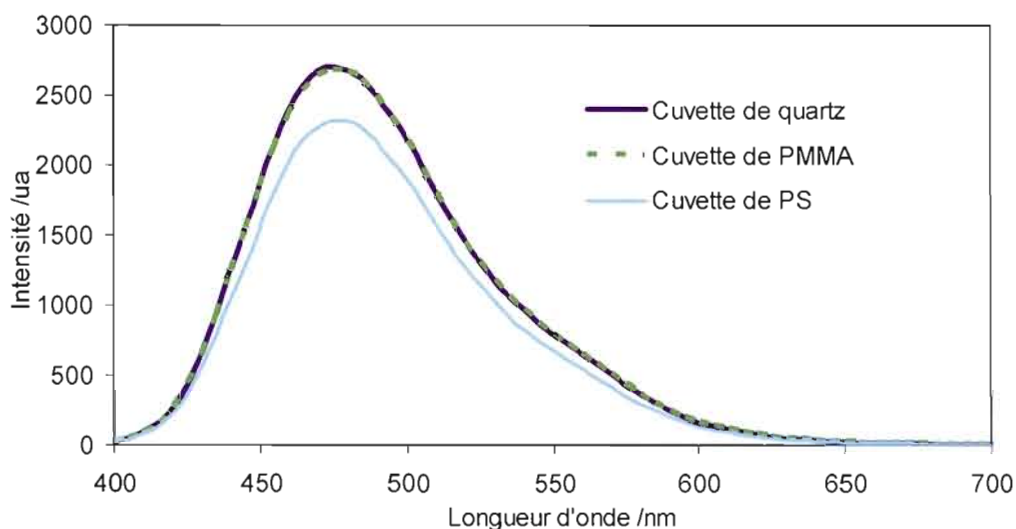


Figure 3.25: Spectre de fluorescence du Be-HBQS à 20 ppb mesuré dans des cuvettes faites de différents matériaux (Hitachi, λ_{ex} = 385 nm).

Les cuvettes de PMMA seront donc celles utilisées pour les étapes de développement de la méthode soit l'évaluation des interférences, la dissolution du BeO ainsi que les mesures de répétabilité, de réplicabilité et de limite de détection.

3.3.3 Évaluation des fluorimètres portables

Deux fluorimètres portables ont été testés pour le dosage du Be, soient le *Modulus* et le *USB4000*. Ce dernier est entièrement contrôlé par le logiciel *SpectraSuite* et il fonctionne seulement en mode de balayage. Pour obtenir l'intensité à une longueur d'onde donnée, il faut rechercher parmi la liste des points mesurés et il prend 3648 points entre 350 et 1000 nm. La durée d'une mesure se situe à près de 1 minute, toutefois si les paramètres de temps

d'intégration et du nombre de balayage sont augmentés alors le temps d'acquisition est prolongé.

Donc, les premiers tests ont été faits avec le *USB4000* en mesurant le spectre du Be-HBQS. Il a été comparé avec un spectre mesuré sur l'appareil Hitachi. Étant donné que les deux fluorimètres ne donnent pas la même réponse, la comparaison par superposition des spectres d'un même produit n'était pas visuellement efficace. Ainsi à des fins comparatives, l'intensité des spectres du Be-HBQS qui apparaissent sur la figure suivante, a été normalisée. La figure 3.26 présente les spectres du Be-HBQS sur le *USB4000* et sur le Hitachi. Le maximum du Be-HBQS se situe à 500 nm avec le *USB4000* ce qui ne correspond pas à la valeur de 475 nm mesurée avec le Hitachi (voir art. 3.2.3). De plus, le pic provenant du *USB4000* n'est pas du tout gaussien, la diminution de l'intensité à l'arrière du pic s'étire sur un plus grand intervalle de longueur d'onde (une forme de *tailing*).

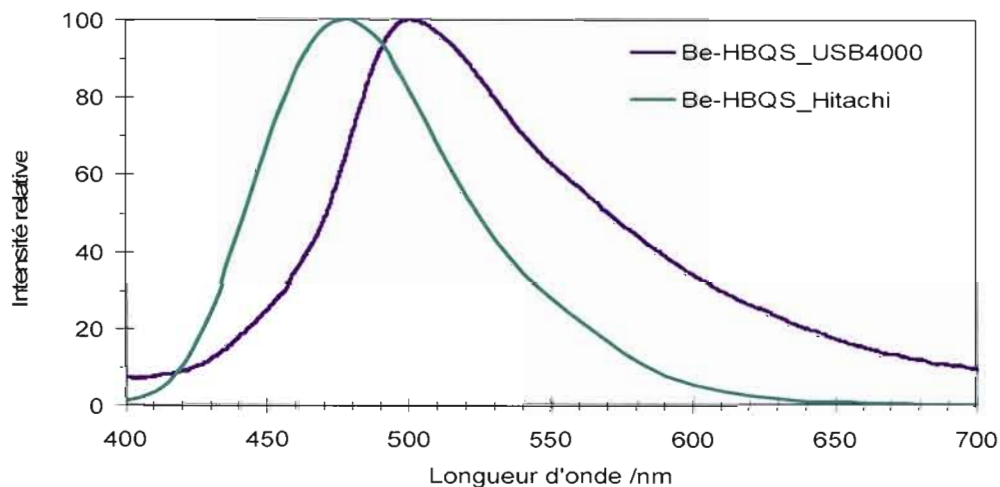


Figure 3.26: Spectres de fluorescence du Be-HBQS (Hitachi et USB4000, λ_{ex} =380 nm).

L'émission du HBQS seul présentait aussi un décalage de 25 nm entre le Hitachi (565 nm) et le *USB4000* (590 nm). L'émission à 590 nm pour le HBQS avait été rapportée avec un appareil USB2000 par Ashley et al. (voir sect. 3.2), malgré cela l'émission rapportée pour le

Be-HBQS avec ce même appareil était à 475 nm et non à 500 nm. Il est donc probable que le fluorimètre *USB4000* ait un problème de calibration du détecteur.

Une comparaison a été réalisée entre trois spectres de sulfate de quinine (reconnue pour ses propriétés de fluorescence) : le premier a été mesuré sur le Hitachi, le deuxième avec le *USB4000* et le dernier a été reconstitué à partir de données spectrales provenant de la littérature (Du et al., 1998). Tous les spectres ont été normalisés. La mesure de spectre de sulfate de quinine a permis de confirmer que le décalage de longueur d'onde provenait bel et bien de l'appareil *USB4000*. La quinine émet à 450 nm dans une solution de H_2SO_4 0,05 M (O'Reilly, 1975). Cette valeur est retrouvée avec le Hitachi tandis que sur le *USB4000*, tel que présenté à la figure 3.27, le spectre de la quinine possède un maximum à 500 nm avec un épaulement à 450 nm. La longueur d'onde d'émission retrouvée avec le Hitachi est corroborée par les données trouvées dans la littérature par la superposition des spectres. La situation n'a pas pu être corrigée même avec la collaboration du fournisseur, le *USB4000* n'a donc pas été utilisé davantage.

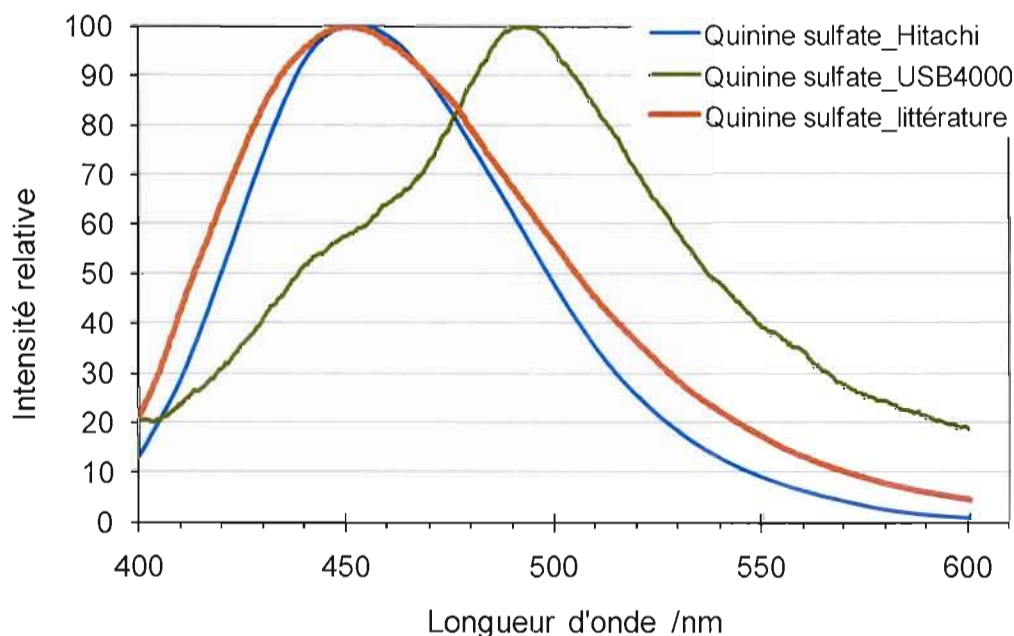


Figure 3.27: Spectres de fluorescence de la quinine sulfate (Hitachi et USB4000, λ_{ex} =380 nm).

Le deuxième fluorimètre portable, le *Modulus*, est contrôlé uniquement sur l'appareil et une interface avec le tableur Excel permet l'acquisition des données sur support informatique. L'appareil ne possède pas de mode balayage, il prend la plus haute mesure d'intensité d'émission dans la fenêtre de longueur d'onde donnée par le filtre installé en usine. L'acquisition prend seulement 7 secondes. Le *Modulus* avec le module optique SO1 (voir chap. 2, sect. 2.2) permet de mesurer des concentrations de Be sur une étendue allant de 0,05 à 160 ppb avec un coefficient de détermination de $> 0,999$. Le Hitachi n'a pas la même source d'excitation ni la même sensibilité de détection, ce qui le limite dans le domaine de linéarité pour la mesure du complexe à moins de 100 ppb. Pour mesurer des concentrations plus élevées, le voltage doit être diminué à 400 V. L'inconvénient principal du *Modulus* est qu'il ne fait pas de balayage pour l'excitation ni l'émission de telle sorte que ces informations doivent être déjà connues. En outre, chaque système optique modulaire compatible avec l'appareil est plus ou moins spécifique à un composé. En effet, comme ces modules sont munis d'une source DEL, il n'y a qu'une longueur d'onde d'excitation. Quant à l'émission, elle est fixée lors de la fabrication du module à l'aide d'un filtre, laissant passer une bande d'environ 10 nm autour de la longueur d'onde d'émission du composé à analyser. L'appareil lira la plus haute mesure d'intensité dans cette fenêtre d'émission. Les principaux avantages du *Modulus* sont sa simplicité d'utilisation, sa rapidité et le fait qu'il permet d'obtenir la concentration d'un échantillon directement. Cet appareil est donc celui sur lequel sera développée la méthode de fluorescence.

3.3.3.1 Comparaison des systèmes optiques du *Modulus*

Deux systèmes optiques ont été testés pour le *Modulus*: le premier système, nommé SO1, a déjà été utilisé pour la mesure du Be-HBQS dans la méthode de Berylliant Inc. (Berylliant Inc., 2007), et le deuxième, nommé SO2, possède des paramètres qui ont été établis spécialement pour ce projet pour la mesure du Be-HBQS. Les paramètres des deux systèmes sont décrits au chapitre 2 à la section 2.2. Aucune étude antérieure ne présente de résultats avec le système optique SO2. D'abord, il est nécessaire de résumer certaines particularités de l'émission du HBQS et du Be-HBQS. Premièrement, le spectre d'émission

du HBQS dans la région d'émission du complexe, autour de 475 nm, présente une fluorescence de base beaucoup plus élevée lorsque l'excitation est à 365 nm plutôt qu'à 385 nm. Deuxièmement, la largeur de la bande d'émission à 580 nm du HBQS est beaucoup plus importante avec l'excitation à 365 nm, ce qui cause un quasi empiètement sur la zone d'émission du complexe. Et troisièmement, il avait été vu que l'intensité d'émission optimale pour le Be-HBQS était obtenue avec une excitation à 385 nm.

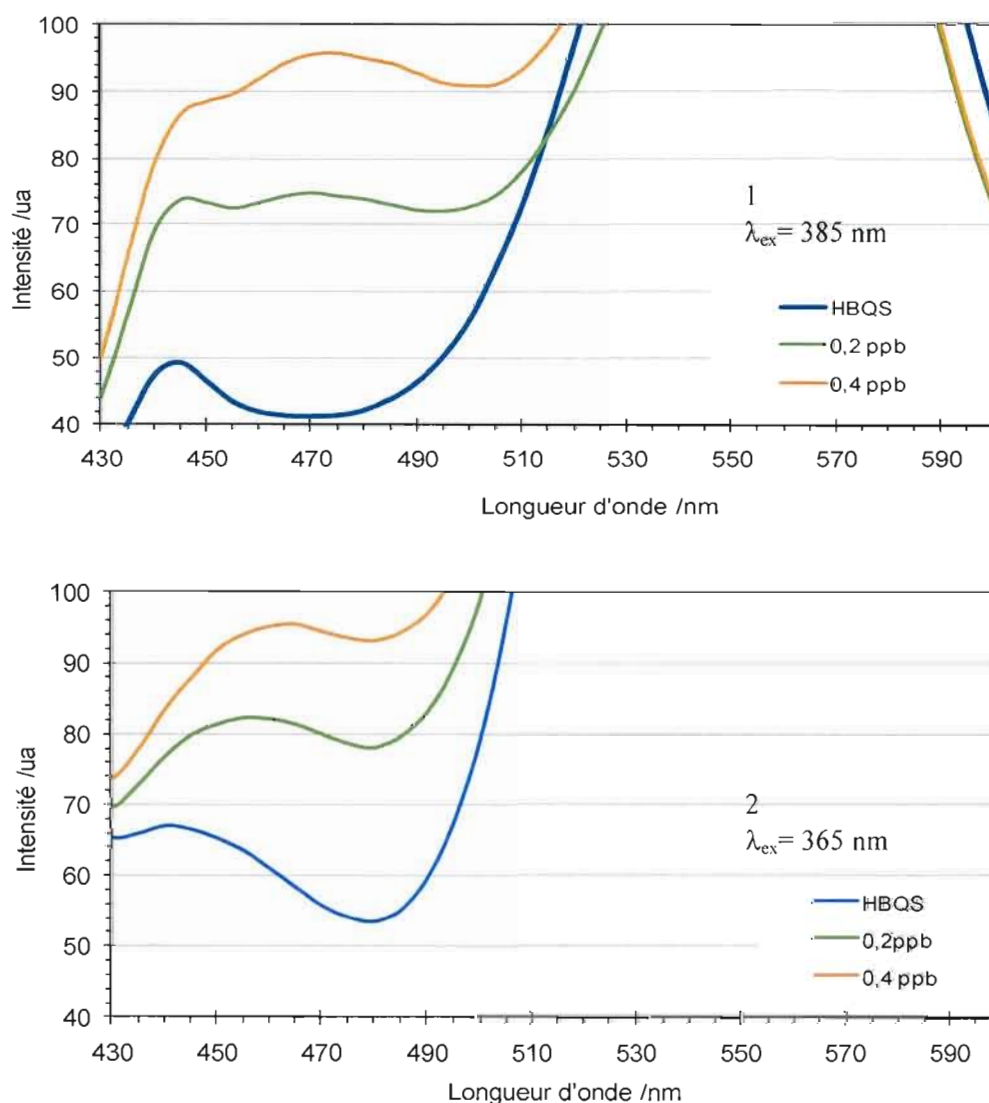


Figure 3.28: Agrandissement des spectres d'émission du HBQS et du Be-HBQS mesurés à deux longueurs d'onde d'excitation différentes. (Hitachi, Spectre 1 : $\lambda_{ex} = 385 \text{ nm}$ et Spectre 2 : $\lambda_{ex} = 365 \text{ nm}$).

En comparant les spectres 1 et 2, sur la figure 3.28, il est clair que pour une même concentration de béryllium, l'excitation à 365 nm est moins favorable à la détection du complexe. En effet, avec l'excitation à 385 nm, (fig. 3.28-1) la présence d'un pic attribuable au Be-HBQS à 475 nm se démarque déjà à une concentration de 0,2 ppb de Be. Tandis que pour l'excitation à 365 nm (fig. 3.28-2), le pic spécifique au complexe ne se distingue pas de la celui du HBQS à cette concentration. La présence du Be-HBQS ne se traduit que par une augmentation générale de l'intensité dans la zone d'émission du complexe par rapport au HBQS seul.

Tel que mentionné précédemment, le fluorimètre Modulus utilisé ne permet pas d'effectuer le balayage des longueurs d'onde d'émission et d'excitation. L'excitation est produite par une DEL d'une longueur d'onde présélectionnée lors de la fabrication des modules optiques. Dans le cas de l'émission, les modules contiennent un filtre préinstallé déterminant la fenêtre d'émission. Ainsi, les longueurs d'onde d'excitation et d'émission deviennent des paramètres fixes de mesure, propres à chaque module. Les fenêtres d'émission ont généralement 10 nm. L'appareil affichera la plus haute intensité lue dans cette fenêtre. Afin de comparer les deux modules optiques, les balayages d'émission effectués avec le fluorimètre Hitachi seront utilisés. Le premier système optique (*SO1*) possède une DEL à 365 nm et pour le deuxième système *SO2*, à 385 nm. Les émissions produites devraient correspondre aux figures 3.28-2 et 3.28-1 respectivement. Le système optique *SO1* a une fenêtre de lecture d'émission allant de 475 à 485 nm et en observant les intensités d'émission dans cette fenêtre, sur la figure 3.28-2, il apparaît que la valeur d'intensité la plus élevée se situe à 485 nm. Toutefois, l'intensité enregistrée à 485 nm ne correspond pas au complexe mais à un enchevêtrement de l'émission du complexe et du réactif. L'intensité mesurée pour les basses concentrations avec ce module optique risque donc d'être surévaluée. De la même manière, l'intensité d'émission mesurée avec le deuxième module optique, le *SO2*, dont la longueur d'excitation est à 385 nm, correspondrait à la figure 3.28-1. La fenêtre d'émission pour ce module est de 468 à 480 nm. Dans cet intervalle de longueur d'onde, le maximum d'émission est attribuable au signal du complexe même dans les basses concentrations comparativement à l'autre module. Le module *SO2* devrait donc être plus sensible que le *SO1* pour les basses concentrations de béryllium.

La sensibilité des modules optiques a été vérifiée en mesurant les concentrations pour différentes solutions de Be. Les méthodes des basses et des hautes teneurs ont été effectuées avec les deux modules, *SO1* et *SO2*. Les pourcentages d'écart à la concentration attendue sont présentés à la figure 3.29.

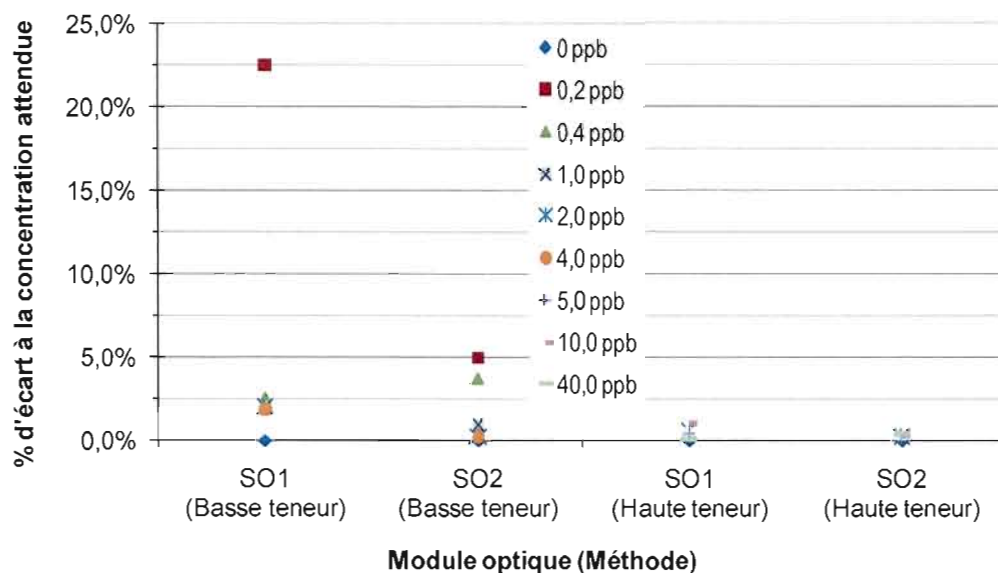


Figure 3.29 : Comparaison des systèmes optiques sur le Modulus pour le dosage du Be à différentes concentrations.

Tel que discuté précédemment, les écarts les plus importants sont situés dans les basses concentrations. Avec les hautes concentrations, des écarts sous 2 % sont obtenus avec l'un ou l'autre des modules. Toutefois, dans les basses concentrations, le module *SO1* est moins exact que le système *SO2*. Pour les solutions contenant 0,20 ppb de Be, un écart moyen de 22,5 % ($n=2$) à la valeur attendue a été obtenu. Ces mêmes solutions mesurées dans le *SO2* ne donnent que 5% ($n=2$) d'écart, ce qui est plus acceptable. Suite à ces résultats, le *SO2* a été retenu pour effectuer le développement de la méthode, ce qui est une amélioration significative de la méthode disponible dans la littérature.

3.4 Évaluation des interférences

3.4.1 Interférences spectrophotométriques

Différents métaux, Al, Cu, Cr, Fe et Ni, ont été étudiés individuellement en présence du HBQS afin de voir s'il y avait formation d'un complexe fluorescent métal-HBQS. Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a pas de formation de complexe entre ces métaux et le HBQS entre 400 et 700 nm. En effet, le spectre de fluorescence du HBQS est demeuré inchangé en présence de chacun des métaux, tel que présenté à la figure 3.30, indiquant qu'aucun complexe n'est formé et qu'aucune inhibition de la fluorescence n'a lieu dans les conditions de mesures utilisées. La solution de HBQS contient de l'EDTA comme agent masquant. Ces cations ont pour la plupart des constantes de formation très élevées avec EDTA allant de 4×10^{13} à 6×10^{18} (Patnaik, 2004). Celle du Be est plus faible, soit $1,6 \times 10^9$. En combinant l'effet de l'agent masquant et de la configuration moléculaire du HBQS qui favorise la chélation du Be, la complexation est nettement favorisée entre le Be et le HBQS. De plus, les métaux de transition sont moins propices à la formation de chélate fluorescent puisqu'ils possèdent plusieurs niveaux d'énergie voisins, ce qui leur permet de procéder à la désexcitation par conversion d'énergie interne. La présence de paramagnétisme chez certains de ces ions permet le changement de multiplicité rapidement lors de transition électronique conduisant plutôt en une émission de phosphorescence (Skoog, Holler et Nieman, 2003).

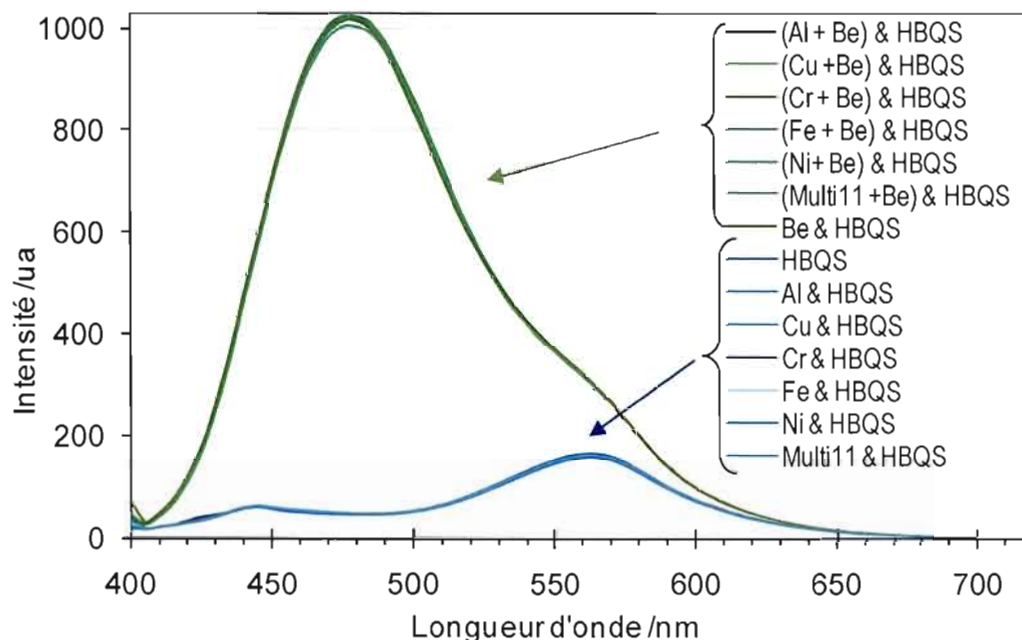


Figure 3.30: Spectre de fluorescence de HBQS et de Be-HBQS en présence de différents métaux. $[Be]=[M]=0,75 \mu M$ (Hitachi, $\lambda_{ex}=385 \text{ nm}$).

Les cinq métaux testés n'interfèrent pas non plus avec la formation du complexe puisque le spectre du Be-HBQS n'est pas modifié en leur présence. La solution appelée multi-11, présentée à la figure 3.30, est une solution multi-élémentaire composée de 11 autres métaux dont la composition est décrite au chapitre 2 au paragraphe 2.4.6.1. Aucune modification aux spectres n'est visible en présence de cette solution. Ces 11 métaux sont donc considérés comme non interférents au niveau spectral. Toutes les solutions ont également été remesurées 15 minutes plus tard afin de vérifier s'il y avait formation tardive d'un complexe M-HBQS. Aucune différence n'a été observée après ce laps de temps.

À cette étape, les concentrations de métaux utilisées étaient du même ordre de grandeur que celle de Be. Les mesures de fluorescence se font habituellement dans des solutions diluées puisque la quantité d'ions en solution pourrait être un inhibiteur de la fluorescence. En effet, la promiscuité entre les atomes pourrait entraîner la désexcitation par des processus photophysiques, tel que le transfert d'énergie, d'électron, de proton, etc, au lieu

de l'émission de lumière. Toutefois, dans une situation d'échantillonnage en milieu de travail, il est très probable que le Be soit en quantité minoritaire par rapport aux autres métaux puisqu'il est généralement en faible pourcentage dans les alliages ($< 2\%$). Le complexe et le HBQS seul ont donc été mis en présence de quantités de métaux plus élevées. L'excès molaire est donné au tableau 3.2.

Tableau 3.2: Excès molaire des concentrations d'interférents par rapport à la concentration de Be (0,22 μM).

Concentration de l'interférent (μM)	Excès molaire des métaux par rapport au Be
400	1800
250	1130
100	450

Les résultats présentés à la figure 3.31 montrent qu'au temps zéro l'aluminium et le cuivre à 400 μM n'interfèrent pas sur le signal du Be et le chrome très peu. La présence du fer abaisse considérablement le signal du Be qui cause une perte de 50% du signal. L'écart grandit avec l'augmentation de la quantité de fer. En milieu basique, il se forme un hydroxyde de fer insoluble qui produit une coloration jaune. Les particules formées peuvent absorber la lumière ce qui explique la baisse d'intensité. Le précipité se dépose graduellement. Le nickel à 400 et 250 μM cause aussi une interférence négative mais il n'y avait pas apparence de coloration ou formation de particules dans la solution. Sur la même figure, sont également présentés les résultats d'une deuxième mesure des mêmes solutions deux heures plus tard. Des observations surprenantes ont été faites. Les solutions contenant du chrome ont perdu de l'intensité, le chrome à 400 μM est passé de 6% d'écart à 27% deux heures plus tard par rapport à l'intensité du Be seul. Tandis que l'inverse s'est produit pour le nickel, l'écart au signal de Be était de 17% et il a été réduit à 4% deux heures plus tard.

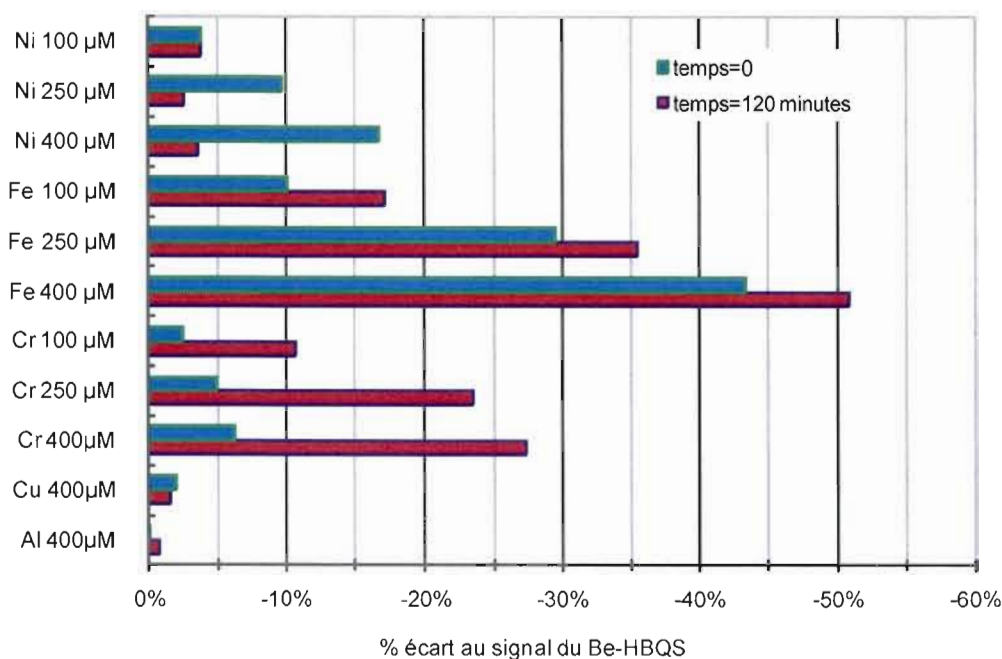


Figure 3.31: Pourcentages de perte de signal de la fluorescence lors de l'ajout de métaux au complexe de Be-HBQS avec la méthode basse teneur. [Be]= 2ppb

La présence de nickel qui causait une perte de signal au départ a un effet mineur après ce laps de temps. Le nickel semble causer un ralentissement dans la formation du complexe et quant au chrome, il a un effet à retardement. L'effet observé semble être intimement relié à l'espèce métallique. En effet, une autre solution de Be-HBQS contenant aussi 2 ppb de Be a été mise en présence de la même quantité des mêmes solutions de métaux mais la méthode des hautes concentrations a été utilisée ce qui signifie que le HBQS est en plus grande quantité dans le mélange. Les écarts mesurés sont du même ordre de grandeur que pour la méthode des basses teneurs tel que montré à la figure 3.32. La même variation du pourcentage d'écart pour le chrome et le nickel entre 0 et 120 minutes est observée. Le fer cause également un écart de signal semblable à celui mesuré dans les basses teneurs.

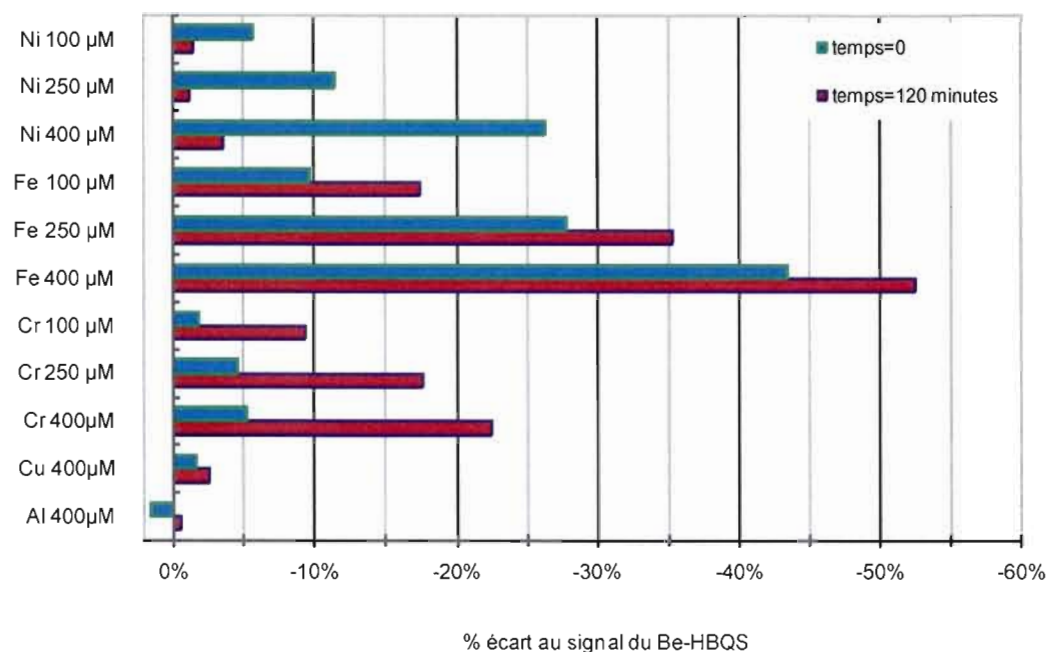


Figure 3.32: Pourcentages de perte de signal de la fluorescence lors de l'ajout de métaux au complexe de Be-HBQS mesuré avec la méthode haute teneur. [Be]= 2ppb

Des essais ont également été réalisés avec d'autres concentrations de Be soit, 0,4 ppb (basse teneur) et 6,75 ppb (haute teneur). Les écarts mesurés sont toujours du même ordre de grandeur peu importe la concentration du complexe ou du HBQS comme présenté au tableau 3.3. Sur la base de ces résultats, il est clair qu'une espèce ionique et sa concentration ont une influence sur l'intensité de la fluorescence du complexe de Be-HBQS peu importe la concentration du complexe. Le chrome et le nickel sont problématiques puisqu'ils font varier l'intensité selon le temps d'exposition à la solution. Le fer produit sans aucun doute une interférence qui pourrait poser problème pour l'analyse des échantillons. Toutefois, la présence de fer est rapidement détectée par la coloration jaune qui apparaît dans la solution dont l'intensité augmente avec la quantité de fer. De plus, les hydroxydes de fer insolubles sont complètement précipités après 4 ou 5 heures. Minogue et al., rapportent qu'il est possible d'éliminer l'interférence en filtrant le précipité pour ensuite procéder à l'analyse.

Tableau 3.3: Pourcentage d'écart à l'intensité de fluorescence du Be-HBQS et du HBQS dû à la présence d'un métal à 400 μ M dans la solution aux temps 0 et 120 minutes.

	Méthode Basse teneur				Méthode Haute Teneur			
	HBQS		0,4 ppb		HBQS		6,75 ppb	
	t=0	t=120	t=0	t=120	t=0	t=120	t=0	t=120
Al 0,4 mM	1%	-1%	-1%	-1%	1%	0%	2%	1%
Cu 0,4mM	-4%	-3%	-2%	-2%	-2%	-2%	0%	0%
Cr 0,4 mM	-3%	-12%	-5%	-21%	-6%	-11%	-3%	-23%
Fe 0,4 mM	-44%	-47%	-44%	-48%	-42%	-50%	-41%	-45%
Ni 0,4 mM	-18%	1%	-14%	-2%	-29%	-2%	-16%	-1%

Les études d'interférences publiées concernant le Be-HBQS rapportent que le complexe supporte un excès molaire de ces métaux de 50000 fois (Minogue et al., 2005). Ils ont aussi rapporté une baisse de signal autour de 10 % pour une concentration de Be à 0,1 μ M causée par excès molaire de fer de 4000 ($[Fe]=400 \mu M$). Quant au chrome et au nickel, leur interférence sur le signal serait de moins de 1 % (Minogue et al., 2005). Ces résultats ne correspondent pas à ceux qui ont été obtenus dans le cadre de ce travail où un excès molaire de fer de 1100 fois cause une interférence significative de 30 %. La seule différence entre les deux expérimentations est le solvant des solutions de métaux ; dans leur publication ils utilisent le NH_4HF_2 1 % alors que dans la présente étude c'est le 1 % HNO_3 qui a été utilisé. Une autre étude sur le complexe Be-HBQS rapporte qu'un excès molaire de fer (dilué dans 0,01 M de HCl) de 100000 fois conduit à une interférence positive de 27 % et un excès de 10000 fois à 2% (Matsumiya Hoshino et Yotsuyanagi, 2001). Une interférence positive du fer (augmentation du signal) est l'effet inverse de ce qui a été observé ici et de ce qui a été rapportée par Minogue et al. Pour l'aluminium, le cuivre et le nickel en excès molaire de 100000 fois, l'écart rapporté ne se situe pas au-delà de 4% (Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001). Malgré la divergence entre les résultats rapportés, toutes les études incluant celle-ci s'accordent pour désigner le fer comme l'interférent le plus important.

3.4.2 Interférences multi-élémentaires

Il a été démontré précédemment que le fer, le nickel et le chrome à des concentrations élevées causaient des interférences sur le signal du complexe Be-HBQS. Les études mentionnées dans la section précédente se sont limitées à l'étude individuelle des métaux. Afin de simuler un échantillon réel, des solutions de métaux multi-élémentaires ont été ajoutées à la solution du réactif seul ou en présence de Be.

Les solutions multi-élémentaires utilisées comptent 16 ions dont Al, Cu, Cr, Fe et Ni. La composition des solutions multi-élémentaires est décrite en détail au chapitre 2 au paragraphe 2.4.6.2. La concentration de chacun des 16 éléments de la solution varie de 0,75 à 40 μM . Ces solutions seront nommées multi-16 pour alléger le texte. L'effet de ces solutions a été observé sur la mesure de 2 ppb de Be. Le tableau 3.4 présente l'excès molaire des interférents par rapport au Be ainsi que la concentration individuelle de chacun des métaux selon les différentes concentrations des solutions multi-16. L'excès molaire par rapport au Be inclut tous les ions du mélange multi-16. Les excès molaires qui seront évalués, ne sont pas aussi élevés que ceux retrouvés dans les deux études mentionnées précédemment car des interférences ont été observées avec un excès molaire de seulement 1100.

Tableau 3.4: Excès molaire en ions et concentration individuelle des ions dans les solutions multi-16.

Concentration totale des interférents (μM)	Excès molaire de l'ensemble des métaux par rapport au Be, $[\text{Be}] = 0,22 \mu\text{M}$	Concentration individuelle de chacun des métaux (μM)
640	2900	40
480	2180	30 /40 (multi-11)
320	1450	20
240	1090	15 /20 (multi-11)
160	730	10
80	360	5
40	180	2,5
24	11	1,5
12	55	0,75

L'intensité du signal du Be-HBQS mesuré dans les basses teneurs présente une interférence négative significative en présence des mélanges multi-16 à 320, 480 et 640 μM (figure 3.33). Ils causent une baisse de signal allant de 13 à 21 %. Une légère interférence de 4 % est également causée par la multi-16 à 160 μM . Le signal du HBQS ne subit pas autant de perte que le complexe pour une même concentration d'ions. La perte de signal croît avec l'augmentation de la concentration des ions tout comme il avait été observé pour le complexe. Toutefois, la perte se limite à 5 % comparativement à 21 % pour le complexe. Les solutions les plus concentrées en métaux demeurent celles qui causent le plus d'écart au signal du Be-HBQS.

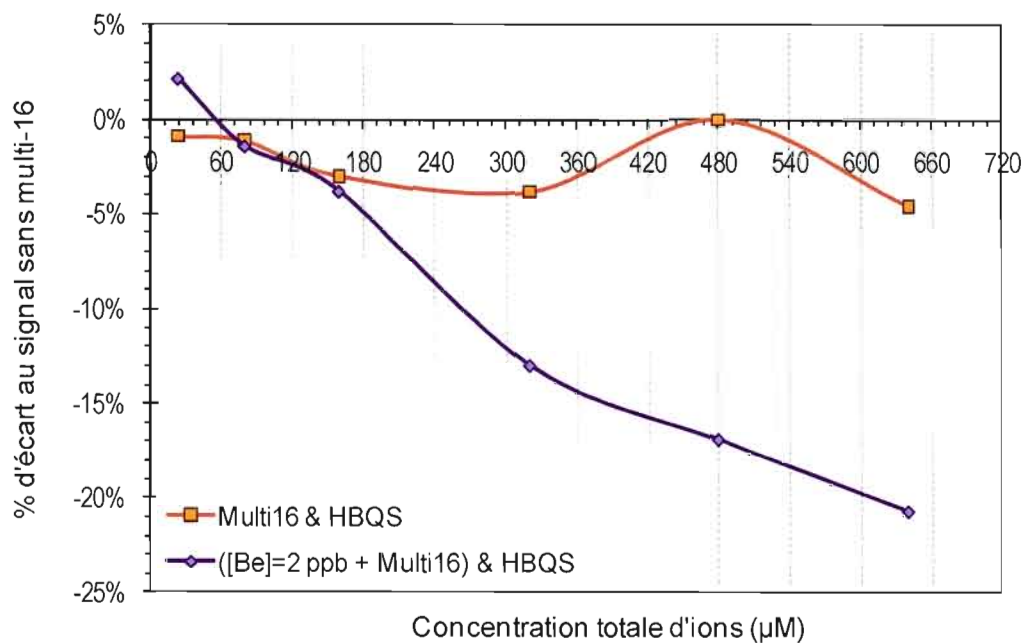


Figure 3.33: Perte de signal du HBQS et du Be-HBQS dans les basses teneurs en présence de solutions multi-élémentaires à différentes concentrations.

Le complexe de 2 ppb de Be mesuré avec la méthode des hautes teneurs est moins affecté, comme montré à la figure 3.34, les écarts se situant à moins de 10 %. En présence de 320 μM d'ions, le complexe dans les basses teneurs montre une baisse de 13 % de son signal tandis que celui mesuré dans les hautes teneurs a un écart de seulement 5 %. La solution à 6,75 ppb démontre également une perte de signal non négligeable en présence de 320 et 240 μM d'ions.

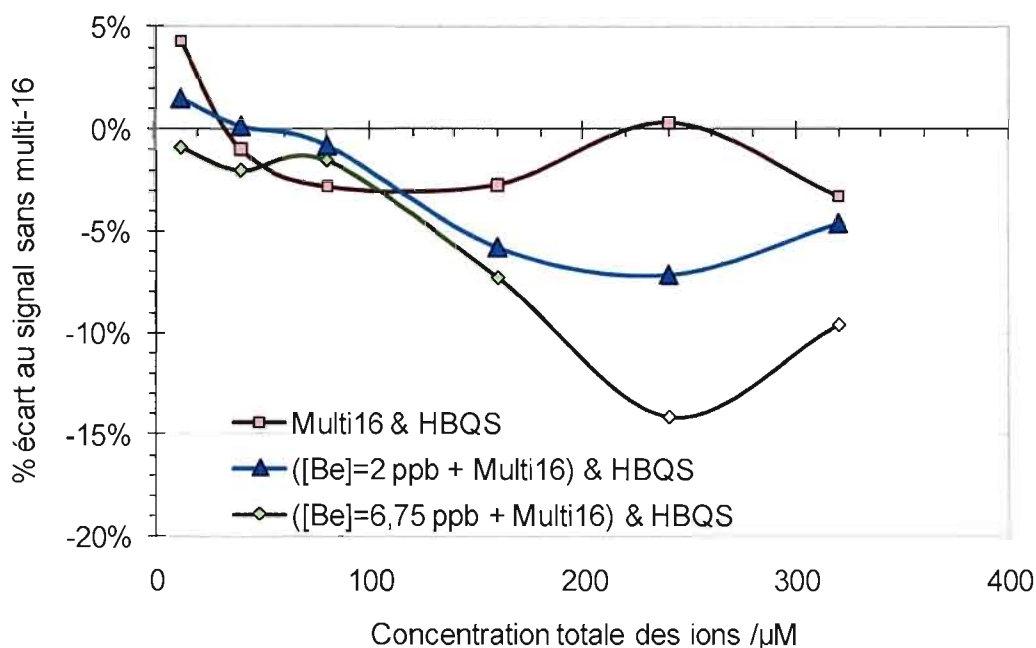


Figure 3.34: Perte de signal du HBQS et du Be-HBQS dans les hautes teneurs en présence de solutions multi-élémentaires à différentes concentrations.

Étant donné que la solution multi-16 affecte le signal du complexe, la cause de l'interférence doit être identifiée. Elle pourrait provenir d'une inhibition de la fluorescence due au grand nombre d'ions dans la solution ou bien d'une espèce présente dans le mélange qui interfère dans la complexation tel qu'il a été observé avec les ions de chrome, de fer et de nickel.

Pour évaluer l'impact du mélange d'ions, les 5 métaux (Al, Cu, Cr, Fe ou Ni) étudiés dans la section précédente ont été jumelés tour à tour avec la solution multi-11. Les mélanges multi-11-Al et multi-11-Cu serviront d'indicateur puisque l'Al et le Cu n'avaient causé aucune interférence individuellement. Quant au mélange multi-11, il n'avait démontré aucun effet interférent en faible concentration (*voir* fig. 3.30), toutefois les concentrations utilisées ici sont plus élevées. Selon que les mesures soient effectuées dans les basses ou dans les hautes teneurs, les solutions contenant le mélange multi-11 comptent un total de 480 ou 240 μM d'ions métalliques. Les résultats sont présentés à la figure 3.35, l'effet sur l'intensité de

l'émission du complexe est peu significatif, la variation est de $\pm 2\%$ par rapport au signal du Be sans métaux. Quant au HBQS, les écarts à l'intensité sont également de $\pm 2\%$.

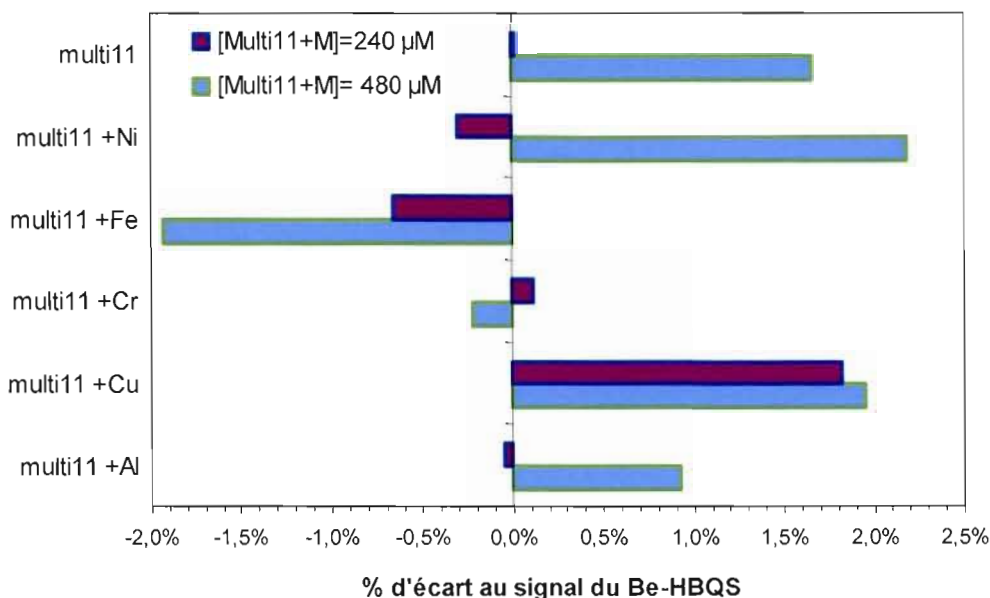


Figure 3.35: Effet des solutions multi-11 + M (M=Al, Cu, Cr, Fe ou Ni) sur une solution de 2 ppb de Be dans les basses et hautes teneurs.

Bien que la solution multi-16 à 480 µM contienne la même quantité d'ions au total que les multi-11+M, l'effet est différent. La multi-16 cause une baisse de 17 % du signal comparativement à moins de 2% dans le cas des multi-11 +M. La quantité totale d'ions n'est donc pas en cause. La différence majeure entre ses solutions est la présence simultanée des ions Fe, Cr et Ni dans la multi-16. D'après les résultats obtenus précédemment, ce sont ces ions qui affectaient la fluorescence du complexe.

Des mélanges d'Al, Cu, Cr, Fe et Ni (appelés multi-5 pour alléger le texte), à différentes concentrations, ont donc été ajoutés à des solutions de Be. Le mélange le plus concentré contient 250 µM de chacun des 5 métaux (1,25 mM au total) et le moins concentré, 10 µM de chacun d'eux (50 µM au total). Les deux mélanges les plus concentrés, 1,25 mM et 400 µM, sont ceux qui causent la plus grande baisse de signal. Plus la concentration en ions est élevée,

plus l'écart au signal de la solution sans métaux est grand. L'effet sur l'intensité est du même ordre de grandeur pour toutes les solutions de HBQS et de Be-HBQS tel que présenté à la figure 3.36.

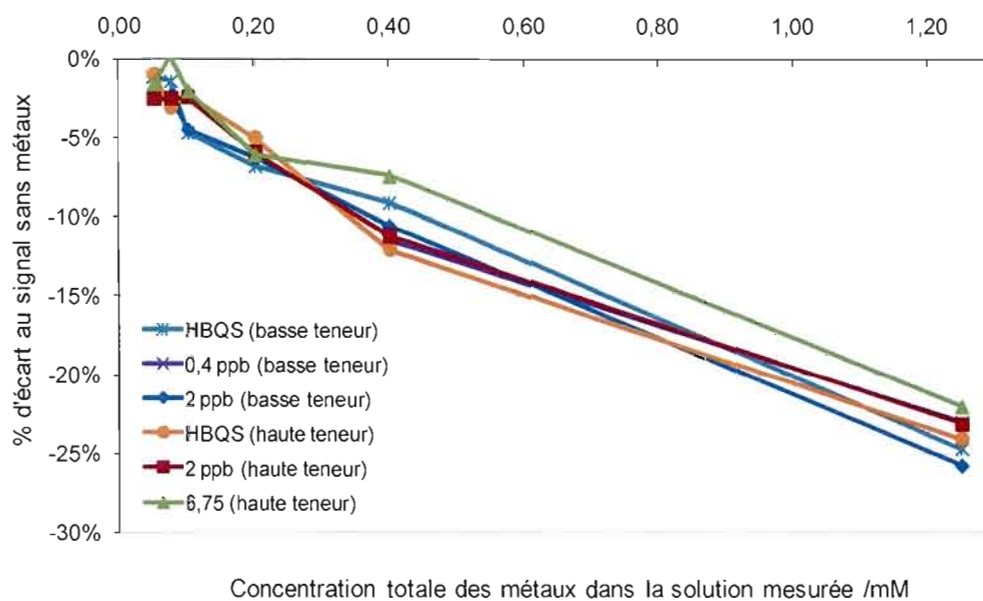


Figure 3.36: Impact de l'ajout de solutions multi-5 à différentes concentrations sur des solutions de Be-HBQS ou de HBQS dans les basses et hautes teneurs.

La comparaison entre les pourcentages d'écart du signal obtenus entre le multi-5 et le multi-16 a été effectuée. Le multi-11+M n'a pas été considéré puisqu'il ne présente pas vraiment d'interférences. Les interférences causées par le multi-5 sont semblables aux effets du multi-16 comme montré au tableau 3.5. Les 3 métaux ciblés seraient donc les plus problématiques.

Tableau 3.5: Comparaison des pourcentages d'écart au Be-HBQS du multi-5 et du multi-16.

Concentration d'ions totale (μM)	% écart calculé	
	Multi-5 ^a	Multi-16
400	10	15 ^b
200	6	6 ^b
100	3	2 ^b
80	2	1
50	2	0

^a % d'écart moyen

^b valeur estimée à partir de la figure 3.32

Observation intéressante: la solution multi-5 à 400 μM contenant 80 μM de fer ainsi que la solution de fer individuelle à 100 μM causent le même écart, de 10 %, par rapport au signal du complexe de Be-HBQS seul (figure 3.31). Ces deux solutions ayant une concentration en fer comparable causent le même écart au signal du Be-HBQS. Le multi-5 à 1,25 mM contient 250 μM de Fe et présente un écart de signal au Be-HBQS autour de 25 %. Cette valeur est similaire à l'écart de 30 % qui a été obtenu lors de la mesure du Be-HBQS en présence d'une solution constituée uniquement de fer à 250 μM (voir fig. 3.30). Le multi-5 à 1,25 mM contient également du chrome et du nickel à 250 μM , concentration à laquelle ils avaient causé de l'interférence individuellement. À 250 μM , le nickel avait baissé le signal de 10 % et le chrome de 5 %. Toutefois, les effets des interférents ne semblent pas additifs puisque l'écart mesuré dans le multi-5 se situerait plutôt autour de 40 %. Il est très probable que l'effet interférent observé ne soit attribuable qu'au fer étant donné qu'il produit une forte coloration jaune pouvant masquer les autres sources d'interférents. Le fer est probablement la source d'interférent parmi celles vérifiées qui a le plus d'impact sur la fluorescence mesurée du réactif et du complexe. Ainsi, une solution contenant plusieurs métaux dont une concentration de plus de 100 μM de fer présentera une baisse de signal qui sera principalement causée par cet élément. Toutefois, si la présence de chrome et de nickel est

soupçonnée alors les résultats doivent être utilisés avec prudence puisque ces métaux ont démontré de l'interférence en présence du complexe de Be-HBQS.

3.4.3 Impact de la présence d'ions métalliques sur la quantification du Be

Étant donné les variations de signal obtenues en présence de solutions multi-élémentaires, il était nécessaire de vérifier l'impact sur la quantification d'échantillons de Be. Pour ce faire, un volume de solution multi-16 de 15 ou de 400 μM a été ajouté à des solutions étalons de Be. Les concentrations d'ions exactes sont données au tableau 3.6. Les solutions ont ensuite été dosées par le mode calibration du fluorimètre Modulus.

Tableau 3.6: Concentration totale des interférents des solutions mesurées.

Concentration de la solution multi-16 (μM)	Concentration totale des interférents (μM)	
	Méthode Basse Teneur	Méthode Haute Teneur
15	24	12
400	640	320

Ces mesures ont été comparées avec des solutions de Be sans éléments interférents. Les résultats montrent, à la figure 3.37, que les faibles concentrations en Be sont les plus affectées par la présence d'une quantité élevée de métaux. L'impact de la solution à 640 μM , sur la concentration de Be, est très grand. En effet, la concentration 0,1 ppb est surestimée de 120 % ce qui est inacceptable. Celle de 0,2 ppb l'est de plus de 20%. L'écart mesuré, de 20 %, pour la concentration de 2 ppb de Be concorde avec le pourcentage d'écart de 21 % (voir fig. 3.33) qui avait été obtenu précédemment pour la solution de Be à 2 ppb entre le signal sans métaux et celui contenant 640 μM d'ions. Dans le cas de la solution de 24 μM d'ions, elle interfère très peu sur la quantification du Be. Seule la concentration de 0,1 ppb est problématique. Il faut toutefois tenir compte de la sensibilité du module optique, tel qu'il avait été discuté au paragraphe 3.3.3.1. Dû à ses caractéristiques, le module SO1 utilisé pour ces mesures peut causer une surestimation des teneurs en Be dans les basses concentrations.

D'ailleurs, la solution de Be à 0,1 ppb sans métaux présente un écart de 10 % à la concentration attendue.

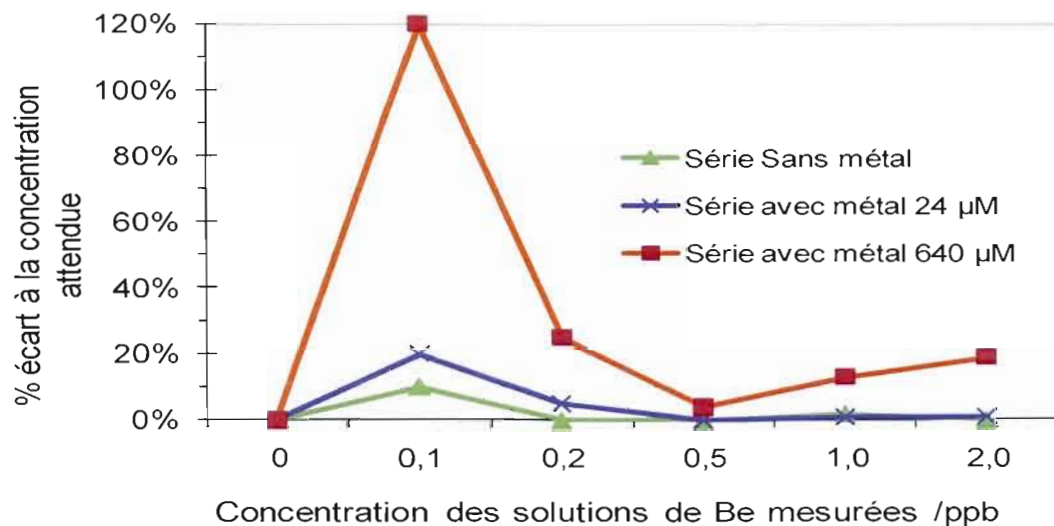


Figure 3.37: Dosage de solutions de Be dans les basses teneurs avec ou sans la présence de solutions multi-élémentaires. (Modulus, SO1)

Le même exercice a été fait avec des solutions à haute teneur, les résultats sont présentés à la figure 3.38. La solution multi-16 à 12 µM a un impact très négligeable. En présence de multi-16 à 320 µM, un léger écart à la concentration attendue est mesuré ($\leq 10\%$).

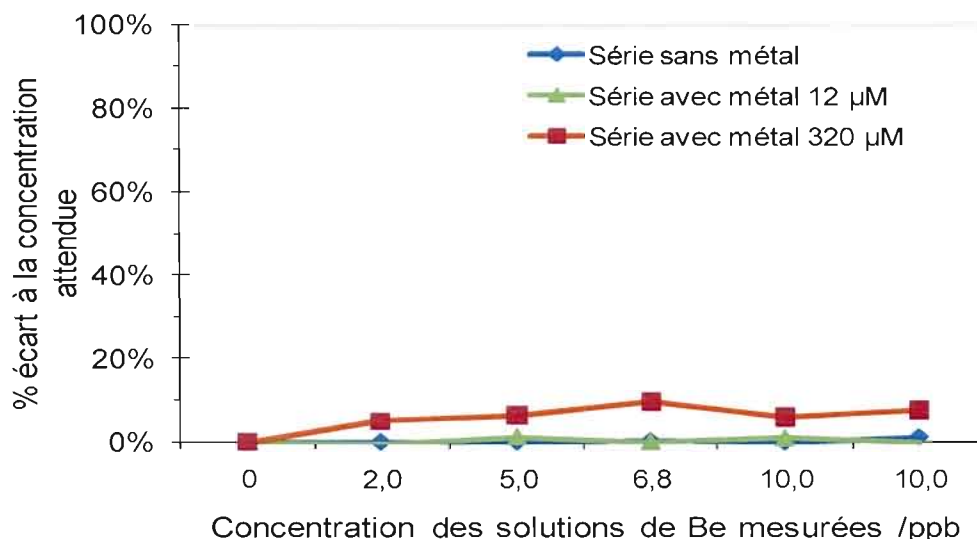


Figure 3.38: Dosage de solutions de Be dans les hautes teneurs avec ou sans la présence de solutions multi-élémentaires. (Modulus, SO1)

Le fait que les écarts mesurés ici ne soient pas du même ordre de grandeur pour les basses teneurs et les hautes teneurs ne contredit pas les résultats obtenus précédemment, ceux qui avaient été observés avec le multi-5 et les métaux individuels. Car, pour ce test de quantification, des volumes différents de la solution multi-16 ont été ajoutés selon la mesure des basses teneurs ou des hautes teneurs, 0,2 et 0,1 mL respectivement. Ceci donne lieu à des concentrations différentes d'ions comme il a été montré au tableau 3.6 Le but était de tenter de représenter l'effet d'un échantillon réel. En effet, selon la méthode de mesure de l'échantillon le volume d'échantillon de Be prélevé sera différent. Pour la mesure des basses teneurs, le prélèvement d'échantillon sera de 0,4 mL et de 0,1 mL pour les hautes teneurs. Ainsi, pour un même niveau de contamination par différents métaux, un échantillon de Be mesuré dans les basses teneurs contiendra davantage d'interférents potentiels.

3.4.4. Interférence sur l'ICP-MS

Quelques solutions utilisées pour les tests d'interférence ayant démontré un effet sur le signal du complexe ont été reprises pour évaluer leur impact sur des solutions de Be dosées à

l'ICP-MS. Les concentrations de Be dans le 1 % HNO_3 ont été choisies dans les basses teneurs puisque c'était généralement celles qui étaient le plus affectées. L'ICP-MS est une technique qui présente des effets interférents différents de ceux rencontrés en fluorescence. Ils peuvent survenir dans le cas d'atomes ou de poly-atomes ayant un même ratio m/z , par la présence d'espèces isobariques ou par un effet de densité de charge qui cause une baisse de signal de la part des plus petits ions. La baisse de signal est due à l'expulsion, par répulsion électrostatique, des petits atomes hors du faisceau d'ions par des ions de masses plus élevées donc avec une plus grande énergie cinétique. L'effet de densité de charge est surtout rencontré dans l'analyse de traces d'éléments légers dont la matrice contient des éléments de masses élevées (Thomas, 2004).

Les différentes solutions de métaux ont été analysées seules et aucune n'a démontré de contamination en Be, les concentrations en Be calculées étaient de zéro. En présence des métaux (figure 3.39) les concentrations de Be mesurées sont plus basses par rapport à celles attendues. Les solutions multi-5 à 1250 μM et multi-16 à 320 μM sont celles qui causent le plus d'écart par rapport à la concentration de Be attendue tout comme en fluorescence. Les métaux étudiés ne sont pas considérés comme des atomes lourds. Toutefois par le nombre élevé d'ions dans la solution, il est possible que l'effet de densité de charge déplace les ions de Be hors du faisceau d'ions lors du parcours des ions à la suite de l'ionisation dans le plasma jusqu'à la lentille (zone sous vide) (Paquette, 2008).

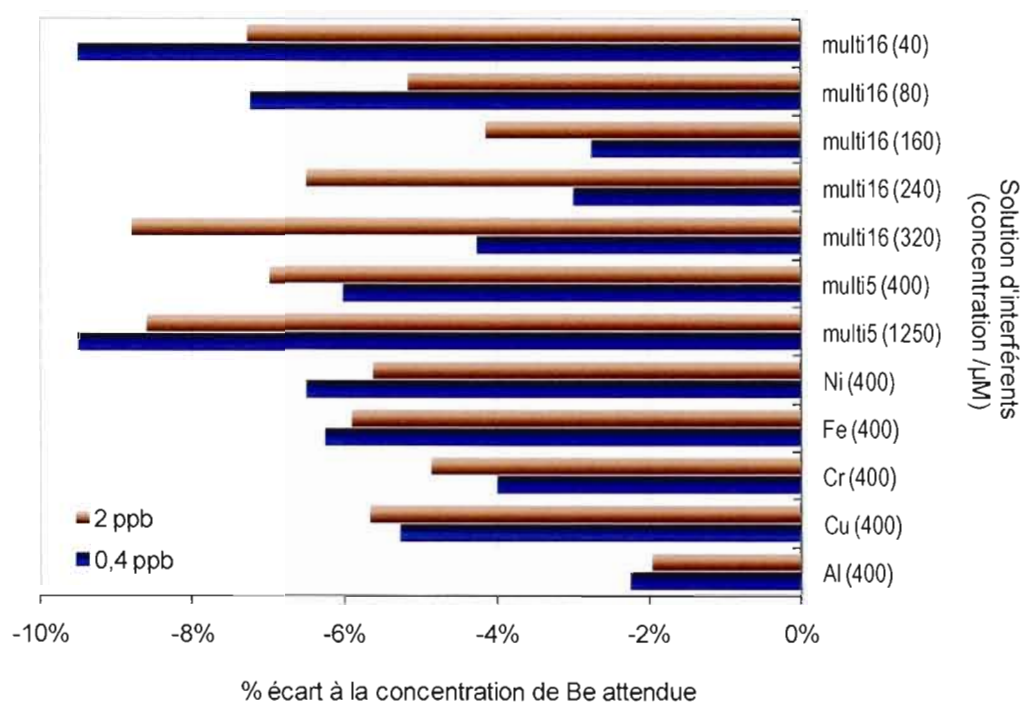


Figure 3.39: Pourcentage d'écart à la concentration de Be attendue en fonction des interférents présents mesuré par ICP-MS.

L'impact demeure relativement minime par rapport à celui observé en fluorescence puisqu'il n'y a pas d'écart au-delà de 10 %. La solution multi-5 à 1250 μM avait causé une baisse du signal >20 % et celle de fer à 400 μM , une perte de plus de 40 %. L'ICP-MS présente donc globalement des résultats moins sensibles aux interférents étudiés par rapport à la fluorescence.

3.5 Essais de dissolution du BeO

L'oxyde de béryllium est une espèce qui se solubilise difficilement. Lors du développement de méthode de dosage de Be en milieu de travail, il est impératif de vérifier le taux de récupération du BeO afin de ne pas sous-estimer les résultats. Le défi que représente la mise en solution du BeO dans le cadre de ce travail est non seulement lié à son insolubilité

mais également à la compatibilité du milieu de dissolution avec la solution de chromophore. La sensibilité du complexe au pH a déjà été mise en évidence à l'article 3.2.4.

Les différents essais de dissolution seront menés dans trois solvants différents. Il a donc été nécessaire de faire 3 séries d'étalons pour les étalonnages. La figure 3.40 montre les étalonnages dans chacun des solvants mesurés avec le Modulus et le module SO2.

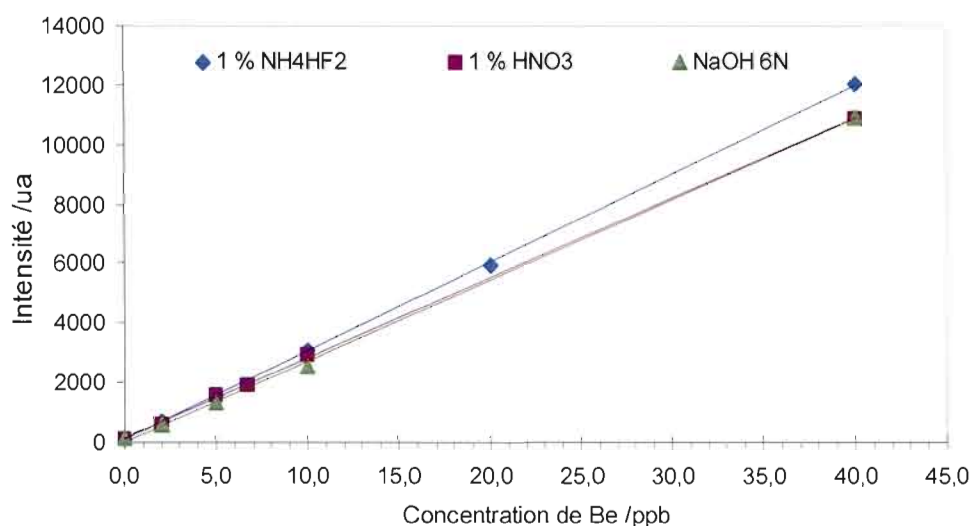


Figure 3.40: Étalonage des hautes teneurs avec le NaOH 6N, HNO₃ 1 % et NH₄HF₂ 1 %.

Le tableau 3.7 donne les paramètres de sensibilité, d'ordonnées à l'origine et de coefficients de détermination pour chacune des droites. Les écarts types sur la pente sont faibles et les coefficients de détermination élevés démontrent une très bonne linéarité. Le critère de linéarité minimum demandé à l'IRSST est de $>0,990$ (IRSST, 2006a).

Tableau 3.7 : Paramètres des droites d'étalonnage présentées à la figure 3.39.

	Pente (m)	Écart-type de la pente (s_m)	Ordonnée à l'origine (b)	Écart-type de b (s_b)	R^2
NH ₄ HF ₂	297,6	1,8	83,7	33,1	0,9999
HNO ₃	269,2	2,6	150,7	44,9	0,9996
NaOH	271,4	4,0	6,4	73,9	0,9994

3.5.1 Dissolution alcaline

Les premiers essais de dissolution ont été effectués avec le NaOH. L'utilisation de ce solvant permet de conserver le caractère hautement alcalin de la solution de chromophore. Le BeO peut être soluble dans une solution fortement alcaline (Cotton, 1988). Il est connu que le Be dans une solution aqueuse basique, à pH entre 8 et 10, est sous forme Be(OH)₂. Cette espèce est insoluble. À pH plus élevé, c'est le Be(OH)₃⁻ qui prédomine et cette forme demeure en solution (Sutton et Burastero, 2003). Le pH de la solution de NaOH 6N est supérieur à 12, les espèces de Be présentes à ce pH devraient donc être solubles.

Les essais de dissolution ont démontré que le NaOH en concentration élevée était apte à dissoudre des particules de BeO mais la récupération était <60 %. Il a été possible d'améliorer la récupération d'environ 20 %, à 85°C, en augmentant la durée du chauffage. L'augmentation du volume de NaOH ou de sa concentration a également permis d'améliorer les pourcentages de récupération mais de moins de 10 %. Ainsi, le facteur qui a permis d'augmenter le plus la récupération est la durée du chauffage. Les pourcentages de récupération sont toutefois en-deçà de 80 % (figure 3.41) malgré une dissolution de 4 heures.

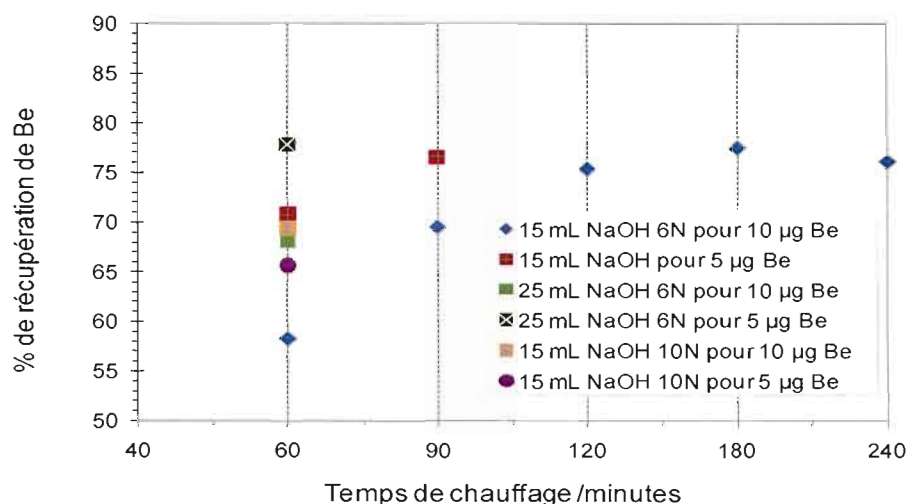


Figure 3.41: Essais de dissolution du BeO avec le NaOH en variant la durée de chauffage, le volume de NaOH et la concentration de NaOH dans un bloc chauffant à 85°C.

Les dissolutions contenant une quantité moindre de Be, 5 µg au lieu de 10 µg, montrent de meilleurs taux de récupération pour une même durée de chauffage. Les échantillons à 5 µg digérés avec 25 mL de NaOH pendant 1 heure donnent des taux similaires de récupération que les échantillons à 10 µg digérés avec 15 mL de NaOH pendant 3 heures. Il semble donc que des volumes plus élevés de solution de dissolution aident à dissoudre plus de particules. Toutefois, le volume ne peut pas être augmenté davantage. En effet, en prenant un échantillon dans l'air correspondant à la norme québécoise de 0,15 µg/m³, avec la méthode actuellement effectuée à l'IRSST (prélèvement de 180 L d'air), une quantité de 0,027 µg de Be serait prélevée. Ce qui est bien en-deçà du 5 µg testé. D'où l'impossibilité d'utiliser un volume de dissolution plus élevé puisque cela signifierait, pour un prélèvement de Be correspondant à la norme, que la concentration de Be serait sous la limite de quantification.

De plus, la mise en solution du filtre ECM par le NaOH 6N amène un effet de matrice. Le filtre dissout cause une augmentation de l'intensité du blanc de plus de 3 fois le signal d'un blanc sans filtre, ce qui est bien suffisant pour masquer le signal de basses concentrations de Be. La solution d'hydroxyde de sodium n'est donc pas bien adaptée pour cette méthode.

3.5.2 Dissolution acide

Les acides inorganiques concentrés sont utilisés depuis longtemps pour la dissolution des métaux (Brisson, 2006a et 2006b). Ils sont utilisés dans la majorité des méthodes de dosage des métaux dont la méthode de l'IRSST pour doser le Be (IRSST, 2007). Non seulement les acides permettent de détruire la matrice mais assurent que les particules se dissolvent quantitativement. Il y a deux critères principaux à observer pour les acides dans le cadre de cette méthode : l'acide ne doit pas détruire le filtre pour éviter l'interférence provoquée par ce dernier et la force de l'acide doit être apte à dissoudre les particules les plus insolubles. La conservation du filtre implique que le processus d'extraction du Be ne peut pas être amené à sec. Il faut donc considérer que l'acide ou le mélange d'acide de dissolution sera présent dans la solution d'échantillon qui sera dosée. L'impact de l'acidité de l'échantillon sur le tampon de la solution de chromophore ne doit donc pas être négligé.

Selon Coleman et al., l'acide sulfurique à 50 % serait plus efficace dans la digestion du BeO que le concentré, la présence d'eau permettant de former un sulfate de béryllium hydraté soluble. Ainsi, ils rapportent un taux de récupération de 99 % pour l'analyse par ICP-AES d'une dissolution sur plaque chauffante de BeO avec un mélange 50:50 H₂SO₄/H₂O pendant 30 minutes (Coleman et al., 2004). Des tests de dissolution de BeO ont été faits avec du HNO₃ 50 % et du H₂SO₄ 50 %. Les résultats qui ont été obtenus ici avec ces mélanges acides ne sont pas concluants puisque l'intensité des signaux donnés par les échantillons sont les mêmes que les blancs. L'intensité de ces blancs était très élevée par rapport à la valeur de HBQS retrouvée habituellement avec HNO₃ 1%. L'acidité trop importante de l'échantillon a probablement détruit le tampon. Ce qui signifie que le signal n'est pas dû au complexe mais plutôt au réactif car tel qu'il avait été démontré à l'article 3.2.4, l'intensité de fluorescence du HBQS seul augmente avec l'augmentation de l'acidité. D'autres essais ont donc été conduits en tentant de dissoudre le BeO tout en utilisant des concentrations d'acide plus faibles. L'acide nitrique concentré est moins puissant que l'acide sulfurique concentré pour la dissolution du BeO. Alors du HNO₃ à 1 % a été utilisé pour obtenir un milieu aqueux acide et des petits volumes de H₂SO₄ concentré ont été ajoutés pour dissoudre les particules de BeO. Le H₂SO₄ concentré est moins utilisé pour les dosages à l'ICP-MS en raison de sa viscosité et

parce que son utilisation demande un entretien plus fréquent de certaines pièces de l'appareil. Différents volumes de H_2SO_4 concentré ont été testés. Les résultats présentés à la figure 3.42 indiquent que plus le volume de H_2SO_4 est élevé plus le taux de récupération du Be est favorisé. Les meilleurs résultats sont obtenus avec des volumes de 0,5 et 0,6 mL, les taux de récupération s'approchant de 95 %. Une dissolution prolongée permet également d'augmenter la récupération en présence d'un faible volume soit 0,1 et 0,2 mL de H_2SO_4 sans toutefois dépasser 85 %. La méthode de mesure utilisée est celle des hautes teneurs.

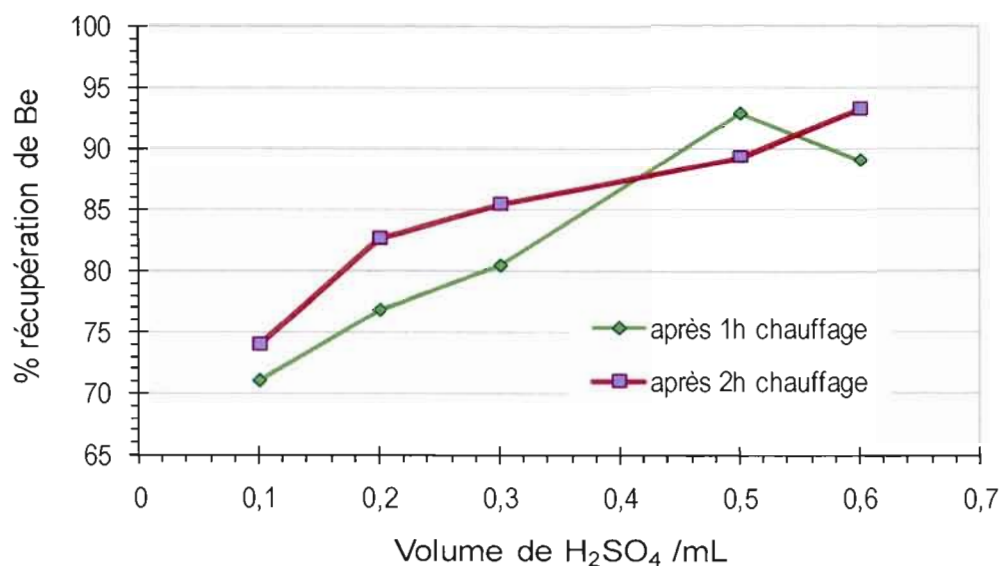


Figure 3.42: Pourcentage de récupération de Be (5 µg) selon le volume ajouté de H_2SO_4 concentré à 10 mL de HNO_3 1%.

Il était nécessaire de vérifier si la concentration mesurée était bel et bien due au signal du complexe et non attribuable à une augmentation de signal causée par une différence d'acidité entre les étalons et les échantillons. À cette fin, des blancs de dissolution réalisés avec 5 mL de 1 % HNO_3 et 0,6 mL ou 0,7 mL de H_2SO_4 concentré ont été enrichis en Be soluble et leurs signaux ont été comparés avec ceux de solutions à 1, 5 et 10 % en HNO_3 contenant une concentration de Be soluble équivalente à l'ajout fait dans les blancs. La différence de signal observée entre les blancs de dissolution enrichis et l'étalon de Be dans 1 % de HNO_3 se situe à ± 2 % (tableau 3.8).

Tableau 3.8: Pourcentages d'écart entre le signal de blancs de dissolution enrichis en Be et des solutions étalons de Be à différentes concentrations de HNO₃.

Méthode	Pourcentage d'écart du signal à une solution de [Be]= 5 ppb					
	Dans 1 % HNO ₃		Dans 5 % HNO ₃		Dans 10 % HNO ₃	
	Blanc A ^a	Blanc B ^b	Blanc A ^a	Blanc B ^b	Blanc A ^a	Blanc B ^b
Haute Teneur	2,0	2,1	0,3	0,4	3,8	3,7

^aBlanc de dissolution à 5 mL HNO₃ 1%+ 0.6 mL H₂SO₄ concentré enrichis à 5ppb de Be

^bBlanc de dissolution à 5 mL HNO₃ 1%+ 0.7 mL H₂SO₄ concentré enrichis à 5 ppb de Be.

Bien que, l'écart le plus minime soit retrouvé avec les solutions contenant 5 % de HNO₃, celui avec les solutions à 1 % HNO₃ a été jugé suffisamment mineur pour ne pas tenir compte de la différence d'acidité. Des solutions de Be solubles ont également été digérées selon cette méthode, le taux de récupération moyen était de 103 ± 4 %. L'acidité de la solution d'échantillon n'affecte pas de façon significative l'intensité d'émission lors des mesures avec la méthode des hautes teneurs.

Malgré cela, des essais ont été tentés avec 5 mL de 1 % HNO₃ et des volumes de H₂SO₄ concentré de 0,5, 0,6 et 0,7 mL. La solution finale était ensuite jaugée à 10 mL avec H₂O nanopure afin de minimiser l'acidité de la solution finale. Les résultats sont présentés à la figure 3.43. L'extraction avec seulement 0,5 mL de H₂SO₄ (5/0,5; 1 h, 85°C) donne les récupérations les plus faibles, sous les 90%. Pour une quantité de Be de 5 µg, le pourcentage de récupération moyen de 90 % obtenu avec 5 mL de 1 % HNO₃ et 0,6 mL de H₂SO₄ (5/0,6; 1 h, 85°C) est très comparable à celui obtenu avec 10 mL/0,6 mL (figure 3.42). L'ajout d'un 100 µL de H₂SO₄ concentré supplémentaire et une durée de dissolution plus longue (5/0,7; 3 h, 85°C) permet d'atteindre une récupération moyenne plus élevée soit de 94 %.

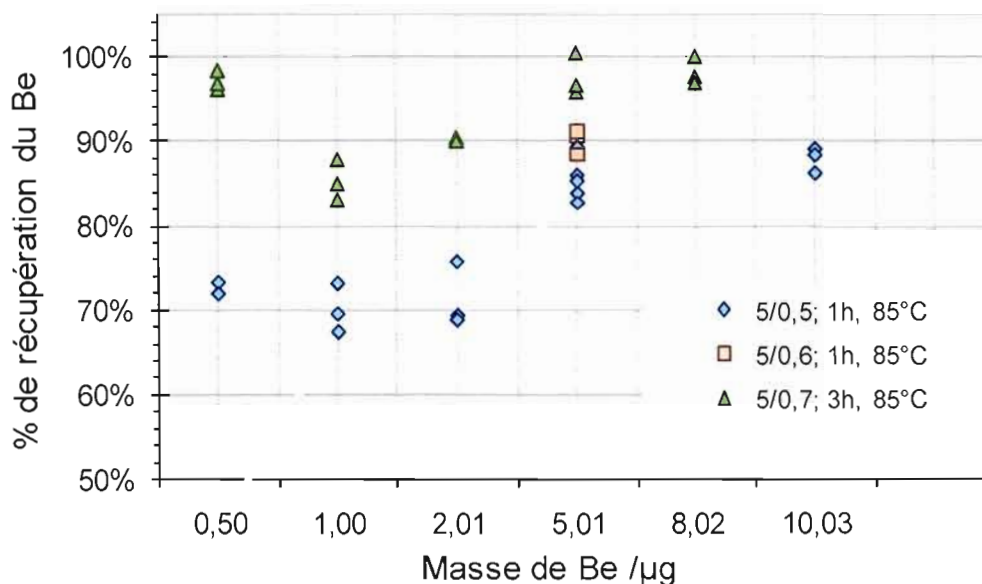


Figure 3.43: Taux de récupération du Be pour différentes quantités de Be et différentes conditions de dissolution (composition du mélange acide; durée; température).

Les quantités de Be de 0,50; 1,00 et 2,01 µg donnent en moyenne des récupérations plus basses. Cela pourrait s'expliquer par les plus faibles prélèvements de la suspension requis pour générer ces quantités de Be. En effet, plus un volume prélevé est faible, plus l'incertitude est grande et l'impact d'une inhomogénéité de la suspension l'est également.

Des essais ont aussi été faits en présence d'une matrice de filtres ECM et les filtres sont demeurés intacts dans la plupart des conditions utilisées, c'est-à-dire la concentration des acides, la durée et la température de chauffage. Toutefois, les filtres des échantillons qui ont été chauffés pendant 3 heures avec 5 mL HNO₃ 1% et 0,7 mL H₂SO₄ concentré ont subi une dissolution partielle ou totale puisque la solution a été presque entièrement évaporée. La dissolution totale du filtre a causé une coloration noire qui aurait empêché de procéder à une mesure de fluorescence adéquate. Il a donc fallu ajouter 5 mL de HNO₃ 1% et 3 heures de chauffage supplémentaire pour digérer complètement la matière organique et éclaircir la solution. Les taux de récupération sont comparés à la figure 3.44.

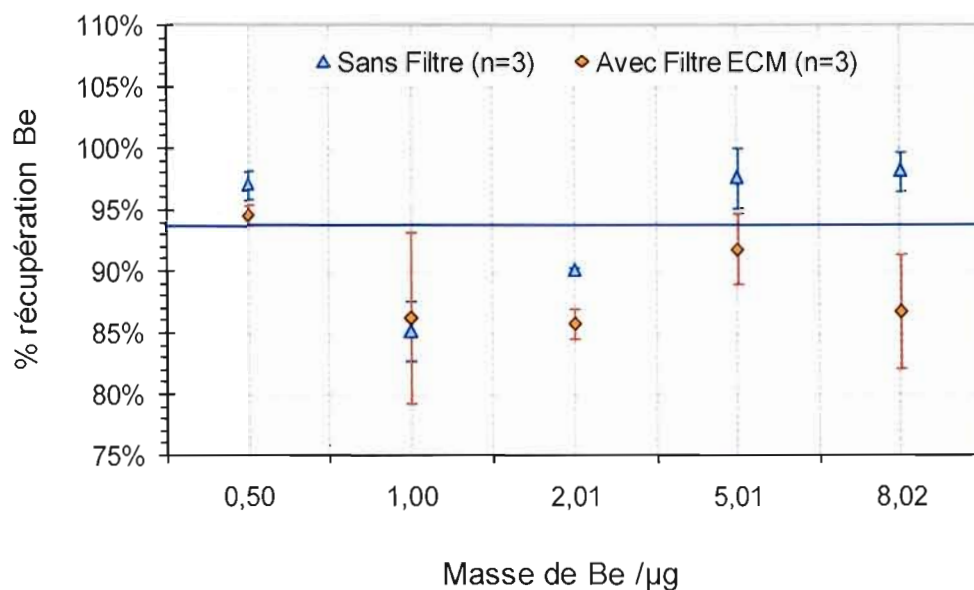


Figure 3.44: Comparaison des pourcentages de récupération pour des solutions de BeO sans filtre et avec filtre.

La récupération moyenne pour toutes les quantités de Be sans la présence de filtre est de 94 ± 6 %. La digestion en présence du filtre donne généralement un taux de récupération plus bas, 89 ± 3 % en moyenne. Cette baisse est probablement attribuable à l'effet de matrice. Toutefois, il est quand même minime puisque dans la plupart des cas les taux de récupération en présence de filtres se situent autour de 5 % de ceux sans filtre.

Des lingettes humides de type Ghost Wipe™ sont utilisées pour les prélèvements d'échantillons de poussières sur les surfaces. La méthode de dissolution acide a été appliquée à une lingette sur laquelle a été déposée une quantité connue de BeO. Les récupérations sont très faibles comparativement aux solutions ne contenant pas de filtre ou avec un filtre ECM. Tout comme les filtres, la lingette ne doit pas être digérée car elle cause un effet de matrice encore plus important que les filtres. Le volume de solution de dissolution utilisé n'est pas très grand, ce qui fait que la lingette en absorbe presque la totalité et il est alors difficile de récupérer la solution contenant le Be solubilisé, comme en témoignent les faibles taux de

récupération montré à la figure 3.45. Avec une récupération moyenne de seulement 34 %, la méthode n'est pas adaptée pour les lingettes de type Ghost Wipe™.

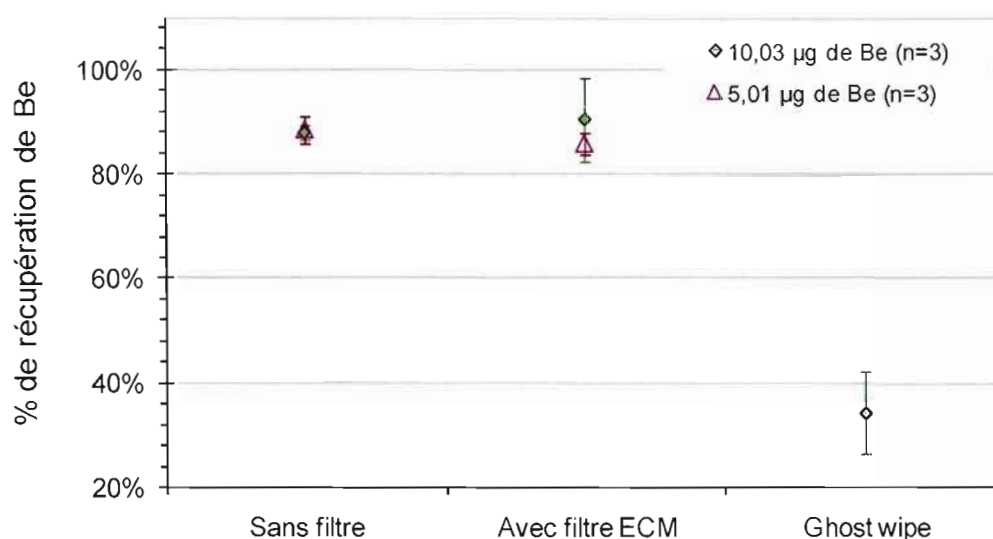


Figure 3.45 : Comparaison des récupérations sans la présence d'un filtre, avec filtre et avec un Ghost Wipe™. (10 mL 1 % HNO₃ et 0,5 mL H₂SO₄ concentré, 1h, 85°C).

Étant donné, l'imprécision des prélèvements de petits volumes de la suspension de BeO, les tests pour les basses teneurs ont été faits avec des solutions standards de Be soluble. Trois niveaux de concentration de Be ont été utilisés représentant 10 %, 100 % et 200 % de la norme québécoise. Les échantillons ont été préparés en triplicata et ils ont été digérés avec 5 mL de HNO₃ 1% et 0,6 mL de H₂SO₄ concentré pendant 3 heures à 85°C. Pour la mesure des basses teneurs de Be, il avait été démontré à l'article 3.2.4 que l'acidité du milieu de dissolution affectait davantage le pH de la solution de chromophore donc le signal. Les quantités de Be dans les solutions d'échantillons ont donc été calculées à l'aide de deux séries de d'étalons d'acidité différente, l'une dans 1 % HNO₃ et l'autre dans 5 % HNO₃. Les pourcentages de récupération calculés avec les valeurs données par les deux étalonnages sont présentés au tableau 3.9.

Tableau 3.9 : Moyenne des masses récupérées et des taux de récupérations obtenus avec des étalonnages dans 1 % HNO₃ et 5 % HNO₃.

	Avec calibration dans 1% HNO ₃ (n=3)		Avec calibration dans 5% HNO ₃ (n=6)	
	Masse moyenne mesurée (μg)	Récupération moyenne (%)	Masse moyenne mesurée (μg)	Récupération moyenne (%)
0,003	nd	nd	0,002±0,001	57±32
0,027	0,028±0,001	103±4	0,030±0,002	112±7
0,054	0,058±0,005	107±10	0,058±0,005	108±9

nd= Non déterminé.

La quantité de Be la plus basse n'a pas pu être mesurée adéquatement avec l'un ou l'autre des étalonnages. En effet, le signal de l'échantillon était inférieur à celui du blanc dans le 1 % HNO₃. Cela est attribuable à l'acidité de l'échantillon qui est suffisamment élevée pour causer une variation de signal significative du complexe. Même lorsqu'ils sont calculés avec la courbe dans le 5 % HNO₃, la récupération est insuffisante à 57 %. Contrairement à ce dernier, les deux autres quantités de Be évaluées ont eu des récupérations supérieures à 100 % avec les deux étalonnages. La récupération moyenne avec la courbe dans le 1 % HNO₃ est de 103 ± 4 % pour 0,027 μg et 107 ± 10 % pour 0,054 μg et dans le 5 % HNO₃ est de 112 ± 7 % pour 0,027 μg et 108 ± 9 % pour 0,054 μg.

Tout comme il avait été fait avec les hautes teneurs pour démontrer que la surévaluation des résultats provient de l'acidité plus élevée des échantillons, par rapport à celle des standards d'étalonnage à 1 % et 5 % de HNO₃, des blancs de dissolution ont été enrichis en Be soluble. Les signaux de blancs de dissolution, réalisés avec 5 mL de 1 % HNO₃ et 0,6 mL ou 0,7 mL de H₂SO₄ concentré et enrichis en Be soluble, ont été comparés avec les signaux d'étalons dans 1, 5 et 10% en HNO₃ ayant une concentration de Be équivalente à l'ajout fait dans les blancs. Les écarts de signal obtenus sont présentés au tableau 3.10. Les intensités des échantillons de blanc enrichis ont été plus élevées que celles des solutions de Be dans 1 % et

5 %, mais plus faibles que celles dans le 10 % de HNO_3 . Les écarts se situent entre 10 et 14 % par rapport au 1 % HNO_3 , entre 7 et 10 % par rapport au 5 % et seulement 2 % par rapport au 10 %.

Tableau 3.10: Variation de l'intensité de blancs enrichis en Be par rapport à des solutions étalons de Be.

Méthode	Pourcentage d'écart du signal à une solution de $[\text{Be}] = 2 \text{ ppb}$					
	Dans 1 % HNO_3		Dans 5 % HNO_3		Dans 10 % HNO_3	
	Blanc A ^a	Blanc B ^b	Blanc A ^a	Blanc B ^b	Blanc A ^a	Blanc B ^b
Basse Teneur	9,7	13,4	6,9	10,5	-1,7	-1,6

^aBlanc de dissolution à 5 mL HNO_3 + 0,6 mL H_2SO_4 concentré enrichis à 2 ppb de Be

^bBlanc de dissolution à 5 mL HNO_3 + 0,7 mL H_2SO_4 concentré enrichis à 2 ppb de Be

Des tests supplémentaires ont été effectués pour tenter de comprendre la différence entre les résultats en fonction de la concentration de Be. La raison expliquant que les basses concentrations soient sous-évaluées et les plus hautes soient surévaluées est directement liée à l'acidité des étalons tel que présenté au tableau 3.11. Les étalons dont la concentration de Be est inférieure à 0,4 ppb (0,16 ng de Be) ont un signal de plus grande intensité s'ils sont dilués dans le 1 % HNO_3 plutôt que dans le 5 %. À des concentrations de Be de plus de 0,5 ppb, le signal des standards dans le HNO_3 5 % est plus élevé, tel que montré au tableau 3.11.

Tableau 3.11: Différence des intensités de fluorescence pour des solutions de Be de basses concentrations diluées dans 1 % et 5 % de HNO_3 .

Concentrations des standards de Be (ppb)	Intensité de fluorescence	
	1 % HNO_3	5 % HNO_3
0	130	122
0,1	145	138
0,2	160	157
0,4	189	182
1,0	274	272
2,0	441	452
4,0	730	763

Il avait été rapporté à l'article 3.2.4 que le complexe augmentait en intensité avec l'augmentation de l'acidité de la solution d'échantillon. Cela est vrai mais pour des concentrations de Be supérieures à 1 ppb. Il est possible d'expliquer ce résultat par le signal des solutions de Be sous les 0,5 ppb qui ne donnent pas de pic distinct à 475 nm, leurs intensités d'émission sont directement reliées à l'intensité de base du HBQS qui, elle, décroît avec l'augmentation de l'acidité de l'échantillon. Ainsi, la concentration des échantillons de basses concentrations, dont l'acidité est supérieure à celle des standards, sera sous-évaluée tandis que pour des concentrations plus élevées, elle sera surévaluée.

La dissolution acide semblait prometteuse quant aux taux de récupération de BeO atteignant jusqu'à 95 %. Toutefois, des problèmes reliés à la compatibilité de l'acidité du milieu de dissolution et du réactif sont survenus lors des mesures des basses concentrations de Be. Cette méthode de dissolution est donc difficilement applicable puisqu'il faudrait déterminer un protocole pour assurer que les dissolutions produisent des échantillons ayant une faible variation de pH afin qu'il corresponde avec celui des étalons de Be.

3.5.3 Dissolution au NH_4HF_2 1%

Le bifluorure d'ammonium (NH_4HF_2) libère de l'acide fluorhydrique en solution aqueuse, acide qui est réputé très efficace pour digérer des matrices minérales complexes (Brisson et al., 2006b). Des réticences concernant l'utilisation de ce produit sont fréquentes mais l'application de mesures de sécurité normales à un laboratoire de dissolution de métaux réduit les risques d'autant plus qu'il est très dilué. L'acide fluorhydrique est peu utilisé dans les méthodes de dissolution car il abîme le verre dont sont constituées certaines pièces d'appareil analytique.

La dissolution du BeO avec 5 mL de 1 % NH_4HF_2 a donné des taux de récupération moyens, présentés au tableau 3.12, de 87 ± 7 % après 30 minutes, de 94 ± 2 % après 60 minutes et de 89 ± 4 % après 90 minutes. Le taux de récupération après 30 minutes est

similaire à ceux qui avaient été obtenus avec le mélange 1 % HNO_3 et 0,7 mL de H_2SO_4 concentré. Par contre, le NH_4HF_2 a permis d'atteindre ces valeurs en moins de 60 minutes alors que la dissolution acide avait duré trois heures.

Tableau 3.12 : Évaluation de la récupération du Be après différentes durées de dissolution dans le 1 % NH_4HF_2 .

	Durée de la dissolution (minutes)			
	30	60		90
Quantité de Be théorique (μg)	5,01 n=3	5,01 n= 5	10,03 n= 3	5,01 n= 3
Récupération moyenne de Be (%)	87 \pm 7	91 \pm 3	96 \pm 1	89 \pm 4

Une étude sur la dissolution du BeO par le NH_4HF_2 à 1 % rapporte un taux de récupération de 86 % après 30 minutes d'agitation et 97 % après 30 minutes de chauffage (Ashley et al., 2007). Les récupérations obtenues ici par le chauffage sont en deçà du 97 % rapporté. Le type de poudre de BeO pourrait expliquer cette différence. En effet, il y a le BeO calciné à plus de 1000°C (*Hi-fired*) et celui calciné à 500°C (*Low-fired*); celui qui est calciné à plus haute température est très peu soluble (IARC, 1993). Le BeO utilisé ici provient de Brush-Wellman et il est calciné à haute température et est donc plus réfractaire. L'oxyde utilisé par Ashley et al. provient de Sigma-Aldrich sans spécification sur le type de BeO. Il est donc fort probable que ce soit celui calciné à basse température donc plus facilement soluble.

Tout comme dans le cas de la dissolution acide, les récupérations dans les basses teneurs ont été vérifiées à partir de solution de Be soluble. Les résultats varient entre 93 et 96 % avec une moyenne de 95 \pm 2 % (tableau 3.13).

Tableau 3.13 : Présentation des masses moyennes et de la récupération moyenne obtenues lors des dissolutions au NH_4HF_2 à 1% pour des basses teneurs en Be.

Masse de Be attendue (ng)	Masse de Be moyenne mesurée (n=6) (ng)	Récupération moyenne (n=6) (%)
0,40	$0,39 \pm 0,03$	$96,3 \pm 6,6$
0,80	$0,76 \pm 0,04$	$94,8 \pm 5,3$
2,16	$2,06 \pm 0,2$	$95,4 \pm 9,2$
4,32	$4,03 \pm 0,33$	$93,2 \pm 7,7$

Les écart-types sur les masses moyennes sont de moins de 10 %, et les valeurs théoriques sont comprises dans les intervalles. La moyenne des masses mesurées a été corrélée avec la masse de Be théorique sur la figure 3.46. Le coefficient de détermination de 0,9999 obtenu démontre que les résultats mesurés correspondent bien aux valeurs attendues.

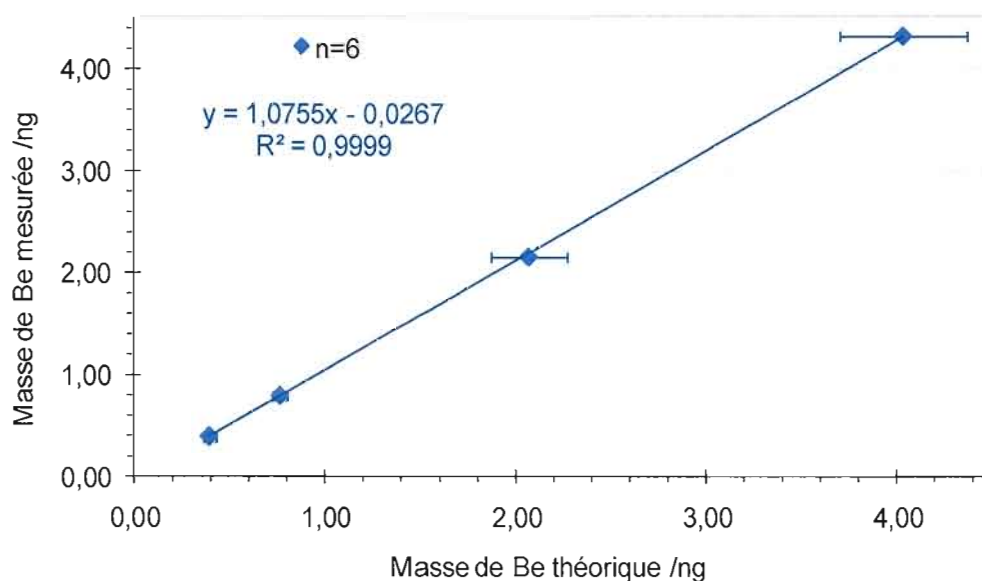


Figure 3.46: Corrélation de la masse de Be entre les moyennes des mesures et les masses attendues pour des basses teneurs de Be avec une dissolution au NH_4HF_2 . (Bloc chauffant, 35 minutes, 85°C).

L'avantage avec la dissolution à l'aide du NH_4HF_2 , est que les quantités de Be, dans les solutions d'échantillon, sont plus élevées que dans le cas de la dissolution acide car la solution à doser est plus concentrée. En effet, le volume d'extraction est de 5 mL alors que dans la dissolution acide il est de 10 mL. La dissolution au NH_4HF_2 permet donc de mesurer des masses de Be plus basses tout en conservant la fiabilité de la mesure.

La dissolution du BeO avec le NH_4HF_2 a également été testée sans chauffage ni agitation. Les résultats, présentés à la figure 3.47, sont surprenants. Après 240 minutes de repos, la récupération du Be a atteint $94 \pm 3 \%$ et $96 \pm 3 \%$ après 24 heures. La disponibilité d'une méthode sans chauffage pour la dissolution de métaux est assez inhabituelle. Les méthodes requièrent généralement plusieurs heures de chauffage. La dissolution sans chauffage demande approximativement le même temps et permet d'obtenir d'aussi bons résultats avec moins d'équipement. Cela donne une alternative intéressante pour l'analyse de Be dans les endroits où les équipements de dissolution tels une hotte et une plaque chauffante ne sont pas disponibles. Les filtres ECM, ajoutés aux échantillons, sont demeurés intacts dans le solvant d'extraction.

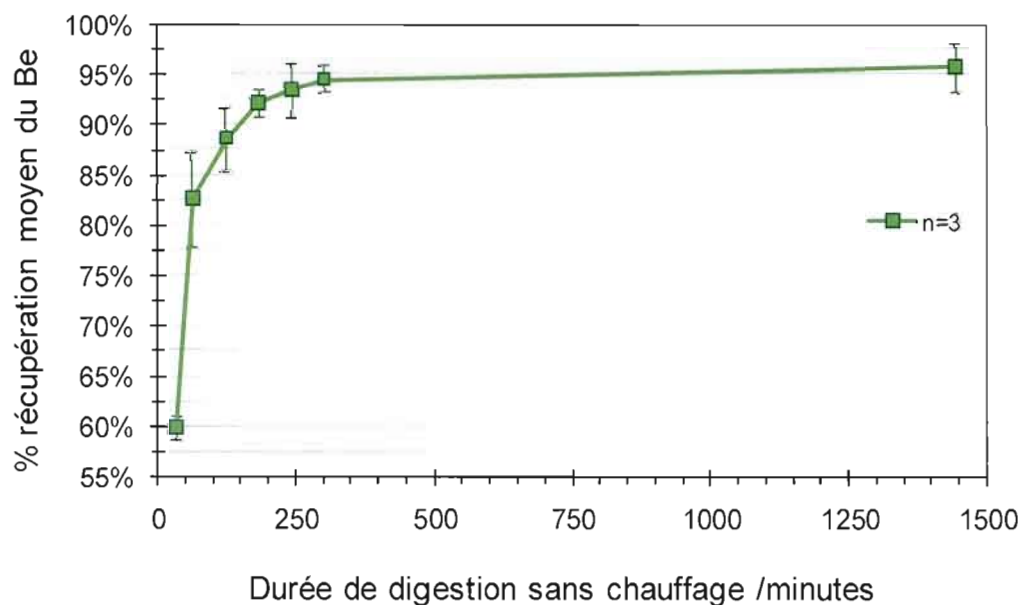


Figure 3.47: Pourcentage de récupération du Be lors de la dissolution sans chauffage à l'aide du 1 % NH_4HF_2 .

Des essais ont aussi été réalisés par agitation et dans le bain à ultrasons pour 30 minutes. Les résultats sont plutôt bas, se situant autour de 70 %. Malgré cela, le NH_4HF_2 1 % semble une meilleure alternative pour la dissolution du BeO puisqu'il permet une durée d'extraction plus courte que la dissolution acide et permet même d'effectuer une extraction sans chauffage. De plus, la solution d'échantillon est moins acide qu'avec la combinaison d'acides, ce qui risque moins d'affecter le pH de la solution de chromophore. Cette méthode de dissolution est également mieux adaptée pour les basses teneurs en Be puisque que la solution à doser est plus concentrée en raison du volume d'extraction qui correspond à la moitié de celui de la dissolution acide.

3.5.4. Comparaison des récupérations entre la méthode en fluorescence et la méthode IRSST 359 (ICP-MS)

Tel qu'il a été mentionné plusieurs fois, les quantités de BeO prélevées dans une suspension sont susceptibles de présenter de nombreuses variations. Pour des fins de vérification, des volumes de suspension ont été prélevés en parallèle pour une analyse selon la méthode de l'IRSST à l'ICP-MS. Le tableau 3.14 résume les masses de Be obtenues par deux différentes techniques analytiques et pour des protocoles de dissolution différents. Aucune des méthodes ne permet de recouvrir la totalité du Be théoriquement présent dans les échantillons mesurés. Les échantillons A ont été digérés selon la méthode de l'IRSST (avec une modification : ajout de 100 μL de H_2SO_4 concentré à l'étape de digestion) et mesurées selon deux modes de mesure soit en ICP-MS et en fluorescence (IRSST, 2007). Les échantillons B ont été mesurés en fluorescence et les dissolutions des échantillons ont été effectuées selon les différents protocoles testés dans cette étude.

Tableau 3.14: Quantités de Be récupérées par différentes méthodes de dissolution du BeO et comparaison entre l'analyse en ICP-MS et en fluorescence.

#	Masse de Be théorique (µg)	Masse de Be mesurée (µg)		
		Échantillons A ^a		Échantillons B
		ICP-MS	Fluorescence	Fluorescence
1	10,03	9,59	9,26	5,85 ^b
2	10,03	9,38	9,23	9,63 ^c
3	10,03	8,97	8,91	8,82 ^d
4	2,01	1,77	1,76	1,4 ^d
5	5,01	4,62	4,53	4,66 ^d
6	5,01	4,82	4,59	4,51 ^d ; 4,95 ^c
7	5,01	4,7	4,48	4,9 ^d

^a Dissolution avec la méthode IRSST 359 modifiée

^b Dissolution alcaline, testée dans cette étude

^c Dissolution avec le NH_4HF_2 , testée dans cette étude

^d Dissolution acide, testée dans cette étude

Les masses récupérées sont plus variables pour les échantillons B étant donné les différents protocoles de dissolution appliqués. L'échantillon B1 a été digéré dans le NaOH et donne des valeurs bien en deçà de l'échantillon A correspondant, ce qui démontre le faible rendement de la dissolution alcaline. Les masses récupérées des échantillons B5 et B7 sont plus élevées que les masses récupérées des échantillons A correspondant, mesurées en fluorescence et en ICP-MS. Le protocole de dissolution acide développé dans cette étude permet donc des récupérations semblables à celles de la méthode IRSST. Le protocole de dissolution dans le NH_4HF_2 (échantillons B2 et B6) permet d'atteindre des récupérations supérieures à ce qui a été obtenu par la méthode de l'IRSST modifiée. Les échantillons A ont été analysés selon deux techniques (ICP-MS et fluorescence) et les résultats montrent que les échantillons mesurés par l'un ou l'autre des deux appareils donnent des valeurs assez semblables ; les écarts étant de moins de 5 %. Il est très intéressant de constater que les mesures en fluorescence permettent d'obtenir des résultats très similaires à ceux observés sur un ICP-MS.

3.6 Validation de la méthode de fluorescence

Les solutions mesurées pour les étapes de validation ont été soumises à toutes les étapes de la méthode sauf l'échantillonnage. Des filtres ECM enrichis de Be soluble ont été digérés avec le 1 % NH_4HF_2 sur le bloc chauffant pour 35 minutes à 85°C à couvercle fermé. Les solutions ont ensuite été refroidies et filtrées. L'analyse a été faite par la technique de fluorescence avec la méthode des basses ou des hautes teneurs selon le cas.

3.6.1 Évaluation de la répétabilité et de la répliquabilité

La précision des méthodes est évaluée au moyen de la répliquabilité et de la répétabilité. Ces deux paramètres sont mesurés avec six répliquats sur quatre niveaux de concentration : pour le premier toutes les mesures se font dans les mêmes conditions tandis que pour le deuxième une des conditions est modifiée entre les répétitions. Les deux méthodes utilisées soient les basses et les hautes teneurs en Be, ont été évaluées pour ces paramètres. Les pourcentages de répliquabilité, montrés au tableau 3.15, sont très bas, ce qui signifie que la variation entre les différentes mesures est faible. Les deux méthodes ont des résultats très semblables, 0,34 et 0,38 % respectivement. La répétabilité est plus élevée mais elle demeure très correcte puisque le critère d'acceptabilité est $< 10\%$. Il est normal d'observer des valeurs plus élevées pour la répétabilité que pour la répliquabilité. En effet, ce paramètre est basé sur l'évaluation de la précision lorsque des variations sont effectuées dans l'application de la méthode telle que la courbe d'étalonnage, l'analyste ou l'appareil. Un critère d'exactitude est cependant retrouvé dans l'évaluation de la précision : une mesure ne peut excéder 25 % de la valeur attendue dans 95 % des cas («25 % *Accuracy Criterion*» de NIOSH). Lors de l'évaluation de la précision aucune des mesures n'a dépassé ce critère (IRSST, 2006a).

Tableau 3.15: Évaluation de la réplicabilité et de la répétabilité pour les deux méthodes.

Méthode	Réplicabilité ^a	Répétabilité ^b	R ² moyen ^a
Basse Teneur	0,34 %	3,48 %	0,9999
Haute Teneur	0,38 %	1,57 %	0,9999

^a Calculé avec l'équation [2] article 2.5.2

^b Calculé avec l'équation [4] article 2.5.3

^c R² correspond au coefficient de détermination

Les coefficients de détermination moyens obtenus lors des mesures sont de 0,9999 (tableau 3.15) soit supérieurs à la recommandation de l'IRSST : $R^2 > 0,990$ (IRSST, 2006a). Aucune publication connue n'avait encore évalué la réplicabilité et la répétabilité de la méthode de fluorescence pour la détermination du Be dans les basses et hautes teneurs.

3.6.2 Évaluation de la limite de détection et de quantification

La limite de détection n'a pas été évaluée pour la méthode des hautes teneurs puisque cette méthode est essentiellement utilisée pour mesurer les concentrations situées entre 2 et 40 ppb. Les concentrations en deçà de 2 ppb devraient être mesurées avec la méthode des basses teneurs.

La limite de quantification méthodologique (LQM) obtenue est de 0,028 ng/mL ce qui est nettement sous la norme québécoise pour le Be dans l'air. Celle-ci correspond à 1,08 ng/mL, ce qui est environ 40 fois plus élevée que la LQM. Un échantillon situé à la norme et recueilli selon la méthode de prélèvement actuellement en vigueur à l'IRSST correspondra à une quantité de 5,4 ng de Be dans la solution de mesure. La méthode permet de quantifier le Be aussi bas que 0,06 ng, et est donc applicable pour la mesure de Be dans des échantillons prélevés dans l'air selon la méthode actuellement utilisée à l'IRSST (IRSST, 2005).

Tableau 3.16: Limite de détection et de quantification pour le dosage du Be en fluorescence avec le HBQS.

Méthode	LDM ^a (ng/mL)	LQM ^b (ng/mL)	LQM (ng)
Basse Teneur	0,008	0,028	0,06

^aLDM : limite de détection méthodologique

^bLQM : limite de quantification méthodologique

Les valeurs de référence pour les surfaces soit 0,2 µg/100 cm² et 3 µg/100 cm², correspondent à des teneurs en Be retrouvées dans la méthode des hautes teneurs (2 et 30 ppb). Elles peuvent donc être quantifiables de façon assez précise en considérant les résultats de réplicabilité.

La limite de détection méthodologique pour la méthode des basses teneurs en fluorescence est plus basse d'un facteur 10 comparativement à celle de la plupart des autres méthodes présentées au tableau 1.2 (chap. 1, sect. 1.3). Dans le tableau 3.17, la LDM mesurée est comparée à d'autres limites de détection.

Tableau 3.17: Comparaison des limites de détection de cette méthode avec la méthode de l'IRSST et une méthode similaire en fluorescence.

Organisme	Méthode /Instrument	Limite de détection
IRSST	359 /ICP-MS	0,0005 µg (VMR)
NIOSH	7704 /Fluorescence	0,00075 µg/filtre (estimé)
Cette étude	Fluorescence	0,0002 µg/filtre

VMR : Valeur minimale rapportée

La limite de détection obtenue avec cette méthode se compare avantageusement aux valeurs de l'ICP-MS. La méthode NIOSH rapporte une limite de détection estimée c'est-à-dire qu'elle correspond à 3 x l'écart-type du signal pour la moyenne des mesures de 10 blancs non enrichis (Ashley et al., 2007 ; NIOSH, 2007c). Dans le cadre de cette étude, la limite de détection a été évaluée selon les critères de validation du CEAEQ. Ce qui signifie que la

limite de détection a dû être évaluée sur la plus basse des concentrations de l'analyte qui après avoir subi toutes les étapes de la méthode produit un signal fiable et statistiquement différent d'un blanc (CEAEQ, 2002). Cette concentration doit d'ailleurs se situer entre 4 et 10 fois la limite de détection (ratio de conformité, chap.2 art. 2.5.4). La limite de détection estimée sur des blancs permet généralement d'obtenir des limites de détection plus basses. Malgré cela, la LDM obtenue lors de la présente étude a permis d'atteindre une valeur encore plus basse. Une des différences entre la méthode NIOSH et cette étude est l'appareil de fluorescence utilisé ainsi que la provenance du réactif. La méthode NIOSH a été évaluée avec un fluorimètre Turner Quantech de Barnsted et le réactif de Berylliant tandis que cette étude a été développée sur un appareil Modulus de Turner Biosystems et un réactif synthétisé.

CONCLUSION

La mise au point d'une méthode en fluorescence pour la détermination du béryllium a nécessité plusieurs étapes. D'abord, un réactif chromophore, le HBQS, a été synthétisé selon une méthode plus simple que celles retrouvées dans la littérature. Ensuite, la formation d'un complexe fluorescent avec le béryllium a été étudiée. L'émission de la fluorescence de ce complexe à 475 nm s'est distinguée de celle du réactif à 565 nm permettant une analyse directe sans extraction préalable. Le fluorimètre portable Modulus de Turner Biosystems avec le système optique ayant une $\lambda_{\text{ex}}=385$ nm et une $\lambda_{\text{em}}=468-480$ nm a permis de quantifier adéquatement le béryllium. Afin de couvrir la gamme de concentration en Be de la norme québécoise dans l'air ($0,15 \mu\text{g}/\text{m}^3$), deux protocoles ont été validés. Le premier couvre les concentrations de 0 à 4 ppb et le deuxième celles de 2 à 40 ppb. L'intensité d'émission du complexe en fonction de la concentration du béryllium est linéaire avec un coefficient de détermination de 0,9999 pour les deux protocoles.

L'étude des interférences a révélé que le fer à $100 \mu\text{M}$ dans la solution de mesure cause une interférence, le pH alcalin causant sa précipitation. Il a également été démontré que la présence de $40 \mu\text{M}$ de chacun des seize interférents potentiels étudiés dont le fer cause une surestimation des concentrations de béryllium dans les basses concentrations.

Par ailleurs, la dissolution du BeO a été évaluée avec différents solvants : le NaOH 6N, mélange 1 % HNO_3 / H_2SO_4 concentré et le 1 % NH_4HF_2 . Alors que le taux de récupération d'environ 60 % obtenu avec le NaOH était jugé trop faible. Le mélange acide montrait un taux moyen d'environ 90 %. Cependant, l'acidité du mélange causait des variations de signal lors des mesures avec la méthode des basses concentrations. Les meilleurs taux de récupération ont été obtenus avec le 1 % NH_4HF_2 , soit autour de 95 %. Il a même été possible

d'atteindre cette valeur sans recourir au chauffage de l'échantillon, ce qui peut présenter un avantage pour l'utilisation de la méthode en fluorescence sur les lieux de travail.

La précision des deux protocoles a été évaluée sous forme de réplicabilité et de répétabilité : les coefficients de variation sont respectivement de 0,34 % et 3,48 % pour la première méthode et de 0,38 % et 1,57 % pour la deuxième. Les résultats indiquent une bonne précision des méthodes. La limite de détection de la méthode est de 0,0002 µg/échantillon ce qui est comparable à la valeur minimale rapportée de 0,0005 µg/échantillon obtenue avec la méthode de l'IRSST utilisant l'ICP-MS (IRSST, 2007).

Finalement, la basse limite de détection obtenue avec la méthode de fluorescence permet de mesurer des ultra-traces de béryllium et les taux élevés de récupération pour le BeO assurent une mise en solution quasi-quantitative du béryllium échantillonné. Par ailleurs, la détermination du béryllium par une méthode de fluorescence est efficace dans la mesure où les interférents potentiels présents dans le milieu d'échantillonnage sont connus.

PERSPECTIVES

L'IRSST, suite à ce projet, pourra rendre disponible auprès des intervenants en santé et en sécurité du travail qui ont les compétences pour effectuer de telles analyses, les résultats de cette recherche et ainsi leur permettre de procéder à la mise en place de la méthode en fluorescence pour la détermination du béryllium dans les milieux de travail. Cela permettrait d'éviter les délais causés par l'envoi des échantillons à l'extérieur pour leur analyse. Le contrôle des concentrations de béryllium dans les espaces de travail concernés s'effectuerait ainsi plus rapidement et donnerait la possibilité aux intervenants de prendre les actions nécessaires le jour même de la prise d'échantillon. Toutefois, il faudrait s'assurer que l'implantation de cette méthode dans les lieux de travail soit encadrée par un programme strict de contrôle de la qualité et d'accréditation sous la supervision d'un chimiste, tout comme le sont les analyses effectuées dans les laboratoires de l'IRSST. De plus, une mise en garde quant au danger du bifluorure d'ammonium pour la santé devra être mentionnée et des recommandations devront être établies en ce qui a trait à l'utilisation de cette méthode en présence de certains contaminants.

Bien qu'elle ne soit pas automatisée, cette méthode pourra également être utilisée en complément de la méthode ICP-MS par l'IRSST en raison de la rapidité du processus d'extraction comparativement à celui utilisé actuellement. Il est d'abord recommandé de procéder à une validation de la méthode en fluorescence avec des échantillons de terrain pour tester la méthode dans les conditions d'échantillonnage réel.

Cette méthode pourrait éventuellement être appliquée à l'analyse d'échantillons de surfaces avec des membranes puisque l'étendue de concentrations mesurables couvre la gamme des valeurs de référence pour les surfaces.

APPENDICE A

SPECTRE RMN¹H

A1	Données du spectre RMN ¹ H du 10-hydroxybenzo[h]quinoline-9-sulfonate tirées du spectre du 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7sulfonate.....	p.114
A2	Données du spectre RMN ¹ H du 10-hydroxybenzo[h]quinoline.....	p.115
A3	Agrandissement du spectre RMN ¹ H du HBQ.....	p.116

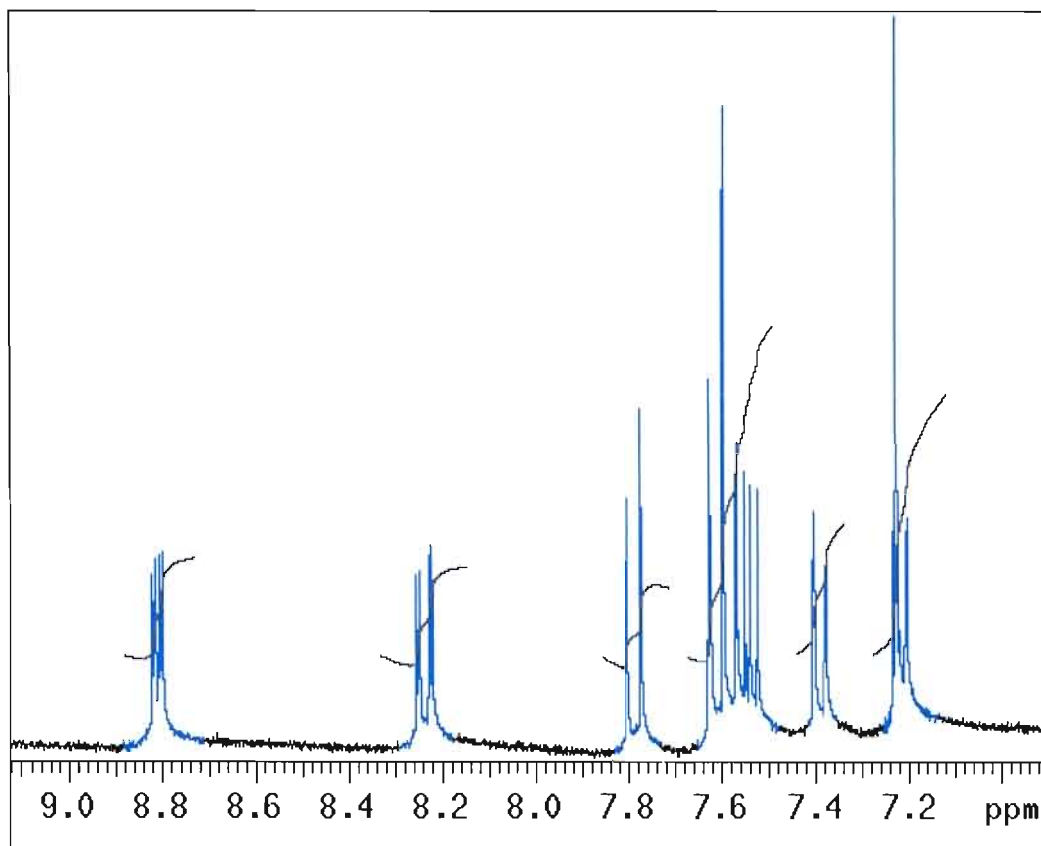
Tableau A1 : Données du spectre RMN¹H du 10-hydroxybenzo[h]quinoline-9-sulfonate tirées du spectre du 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate (pics minoritaires, voir fig. 3.1-1), les données sont comparées avec celles de la littérature (McCleskey et al., 2006)

	Attendu	Obtenu	Attribution proton
δ (ppm)	9,27-9,20	9,24	H _a et H _b
Multiplicité	multiplet	Doublet apparent	
Intégration	2	2	
Couplage (Hz)	---	---	
δ (ppm)	8,239	8,237	H _f
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{b-f} =8,1; J _{a-f} =5,7	J _{b-f} ; J _{a-b} =nd	
δ (ppm)	8,219	8,226	H _c et H _d
Multiplicité	ABq		
Intégration	2	2	
Couplage (Hz)	J _{c-d} =9	J _{c-d} =nd	
δ (ppm)	8,10	8,09	H _g
Multiplicité	Doublet	Doublet	
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{g-e} =8,3	J _{c-d} =8,8	
δ (ppm)	7,77	7,76	H _e
Multiplicité	doublet	doublet	
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{e-g} =8,3	J _{e-g} =8,8	
δ (ppm)			H _l
Multiplicité	Emplacement du sulfonate		
Intégration			
Couplage (Hz)			

Tableau A2 : Données du spectre RMN¹H du 10-hydroxybenzo[h]quinoline , acheté de Alfa Aesar, les données sont comparées avec celles de la littérature (McCleskey et al., 2006)

	Attendu	Obtenu	Attribution proton
δ (ppm)	8,86	8,85	
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	H _a
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{a-f} =4,7; J _{a-b} =1,7	J _{a-f} =4,7; J _{a-b} =1,7	
δ (ppm)	8,28	8,28	
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	H _b
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{b-f} =8,0; J _{a-b} =1,7	J _{b-f} =8,1; J _{a-b} =1,8	
δ (ppm)	7,84	7,83	
Multiplicité	doublet	Doublet	H _c
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{c-d} =8,9	J _{c-d} =8,8	
δ (ppm)	7,66	7,65	
Multiplicité	Doublet	Doublet	H _d
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{c-d} =8,9	J _{c-d} =9,1	
δ (ppm)	7,65	7,64	
Multiplicité	Triplet	Triplet	H _e
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J =7,9	J =7,9	
δ (ppm)	7,59	7,59	
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	H _f
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{f-b} =8,1; J _{f-a} =4,7	J _{f-b} =7,8; J _{f-a} =4,7	
δ (ppm)	7,44	7,43	
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	H _g
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{g-e} =7,9; J _{g-f} =1	J _{g-e} =8; J _{g-f} =1,1	
δ (ppm)	7,28	7,26	
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	H _i
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{i-g} =1; J _{i-e} =7,9	J _{i-g} =1,1; J _{i-e} =8	

Figure A3 : Agrandissement du spectre RMN¹H du HBQ (CDCl₃).



BIBLIOGRAPHIE

Agrawal, Anoop, John Cronin, Juan Tonazzi, Mark T. McCleskey, Deborah S. Ehler, Edel M. Minogue, Gary Whitney, Christopher Brink, Anthony K. Burrell, Benjamin Warner, Michael J. Goldcamp, Paul C. Schlecht, Perna Sonthalia et Kevin Ashley. 2006. «Validation of a standardized portable fluorescence method for determining trace beryllium in workplace air and wipes samples». *Journal of environmental monitoring*, vol. 8, p. 619-624.

Agrawal, Anoop, Juan C.L. Tonazzi et John Cronin. 2007. *High sensitivity, low-cost fluorescence detection system for beryllium particulates*. Final report phase 1 SBIR, DOE ER84587, soumis par AJJER LLC Tucson, AZ.

American conference of governmental industrial hygienists (ACGIH). 2009. «*Beryllium and compounds*». Documentation of threshold limit values. ACGIH, Cincinnati, Ohio, 14 p.

American society for testing and materials (ASTM). 2003. «Standard practice for collection of settled dust samples using wipe sampling methods for subsequent determination of metals (D6966)». *Annual book of ASTM standards*, ASTM International, 4 p.

Ashley, Kevin, T. Mark McCleskey, Michael J. Brisson, Gordon Goodyear, John Cronin et Anoop Agrawal. 2005. «Interlaboratory evaluation of a portable fluorescence method for the measurement of trace beryllium in the workplace». *Journal of ASTM international*, vol. 2, p. 102-109.

Ashley, Kevin, Michael J. Brisson et Steven D. Jahn. 2006. «Standard methods for beryllium sampling and analysis: Availabilities and needs» *Journal of ASTM international*, vol. 3, no. 1 (janvier), p. 15-26

Ashley, Kevin, Anoop Agrawal, John Cronin, Juan Tonazzi et T. Mark McCleskey. 2007. «Ultra-trace determination of beryllium in occupational hygiene samples by ammonium bifluoride extraction and fluorescence detection using hydroxybenzo[h]quinoline sulfonate». *Analytica chimica acta*, vol. 584, p. 281-286.

Berylliant Inc. 2007. *Manual for procedures and kit description for determination of beryllium particulates (Befinder)*. www.berylliant.net visité le 10 octobre 2008.

Bonnard, N., M.T. Brondeau, M. Falcy, J.C. Protois, et O. Schneider. 2006. «Beryllium et composés minéraux». *Institut national de recherche et de sécurité (INRS), FT92*, 8 p.

Brisson, Michael J., Amy A. Ekechukwu, Kevin Ashley et Steven D. John. 2006a. «Opportunity for standardization of beryllium sampling and analysis». *Journal of ASTM international*, vol. 3, no. 1, p. 3-14

Brisson, Michael J., Kevin Ashley, Aleksandr B. Stefaniak, Amy A. Ekechukwu et Kathryn L. Creek. 2006b. «Trace-level beryllium analysis in the laboratory and in the field: state of the art, challenges and opportunities». *Journal of environmental monitoring*, vol. 8, p. 605-611.

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ). 2002. *Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie*, document DR-12-VMC, 27 p.

Chen, Kew-Yu, Cheng-Chih Hsieh, Yi-Ming Cheng, Chin-Hung Lai et Pi-Tai Chou. 2006. «Extensive spectral tuning of the proton transfer emission from 550 to 675 nm via rational derivatization of 10-hydroxybenzo[h]quinoline». *Chemical communication*, vol. 42, p. 4395-4397.

Chou, Pi-Tai et Ching-Yen Wei. 1996. «Photophysics of 10-hydroxybenzo[h]quinoline in aqueous solution». *Journal of physical chemistry*, vol. 100, p. 17059-17066.

Chou, Pi-Tai, Youn-Chan Chen, Wei-Shan Yu, Yi-Hsuan Chou, Ching-Yen Wei et Yi-Ming Cheng. 2001. «Excited-state intramolecular proton transfer in 10-hydroxybenzo[h]quinoline». *Journal of physical chemistry*, vol. 105, p. 1731-1740.

Coleman, C.J., A.R. Jurgensen, D.R. Click, J.C. Hart, W. Rutherford, M. Smith, T.L. White, B.H. Burch et D.M. Missimer. 2004. *Evaluation of high-fired beryllium oxide digestion methods to measure beryllium in industrial hygiene samples by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy*. Savannah river national laboratory technical report n° WSRC-TR-2004-00395, rev. 1, Aiken, South Carolina, USA, 37 p.

- Cotton, Albert F. et Geoffrey Wilkinson. 1988. *Advanced Inorganic Chemistry*. 5e Edition, New York: John Wiley & Sons, 1455 p.
- Day, Gregory A., Aleksandr B. Stefaniak, Ainsley Weston et Sally S. Tinkle. 2006. «Beryllium exposure: dermal and immunological considerations». *International archives of occupational and environmental health*, vol 79, p.161-164.
- Del Valle, Juan C. et Javier Catalan. 2001. «Understanding the solvatochromism of 10-hydroxybenzo[h]quinoline. An appraisal of a polarity calibrator». *Chemical Physics*, vol. 270, p. 1-12.
- Dion, Chantal et Guy Perreault. 2004. *Nettoyage et décontamination des lieux de travail où il y a présence de béryllium, Synthèse des bonnes pratiques*. Montréal : IRSST, 26 p.
- Dion, Chantal. 2006. «Le plan béryllium au Québec». In *Toxicologie humaine et environnementale : indicateur d'exposition, marqueurs d'effet : Colloque de l'association pour la recherche en toxicologie (ARET)* (Paris, 15-16 juin, 2006) 5 p.
- Du, H., R. A. Fuh, J. Li, A. Corkan et J. S. Lindsey. 1998. «PhotochemCAD: A computer-aided design and research tool in photochemistry» *Photochemistry and Photobiology*, vol. 68, p. 141-142.
- Environmental Protection Agency (EPA). 1994. «*Determination of metals and trace elements in water and wastes by inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (200.7)*». 58 p.
- Faucher, Monique L. 2006. «Opération béryllium, la traque continue de plus belle». *Prévention au travail*, vol. 19, p.37-39.
- Grunig, James K., William B. Davis et William C. Aitkenhead. 1972. «Extraction of beryllium from ores». *US patent* no. 3699208.
- Hoshino, Hitoshi, Takeshi Nomura, Kouji Nakano et Takao Yotsuyanagi. 1996. «Complexation of Be(II) ion with 1-(2,4-dihydroxy-1-phenylazo)-8-hydroxy-3,6-naphthalenedisulfonate as the chemical basis of the selective detection of ultratrace Be by reversed-phase high-performance liquid chromatography». *Analytical chemistry*, vol. 68, p. 1960-1965.

Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail (IRSST). 2005 «Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail», Guide technique T-06, Montréal : IRSST, 200 p.

Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail (IRSST). 2006a «Développement, mise au point et validation d'une méthode analytique», Document I-G-020, 15 p.

Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail (IRSST). 2006b «Lavage de la verrerie». Document I-G-006, 4 p.

Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail (IRSST). 2007 «Détermination du béryllium [7440-41-7] dans l'air des lieux de travail (359)», Méthode analytique, 13 p.

International agency for research on cancer (IARC). 1993. «Beryllium, cadmium, mercury and exposures in the glass manufacturing industry». *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, World Health Organization, Lyon, France, 444 p.

Jiang, Chongqui et Fang He. 2003. «Spectrofluorimetric determination of trace amounts of beryllium in mineral water and human's hair». *Spectrochimica acta part A*, vol. 59, p.1321-1328.

Keizer, Timothy S., Nancy N. Sauer et T. Mark McCleskey. 2004. «Designer ligands for beryllium». *Journal of american chemical society*, vol. 126, p. 9484-9485.

Kolanz, Marc E. 2001. «Introduction to beryllium : Uses, regulatory history, and disease». *Applied occupational and environmental hygiene*, vol. 16, no 5, p. 559-567.

Lambert, Joseph B., Herbert F. Shurwell, David A. Lightner et R. Graham Cooks. 1998. *Organic structural spectroscopy*. New Jersey: Prentice Hall, 568 p.

Matsumiya, Hiroaki, Hitoshi Hoshino et Takao Yotsuyanagi. 2001. «A novel fluorescence reagent, 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate, for selective determination of beryllium(II) ion at 10^{-3} levels». *Analyst*, vol. 126, p. 2082-2086.

Matsumiya, Hiroaki et Hitoshi Hoshino. 2003. «Selective determination of beryllium (II) ion at picomole per decimeter cubed levels by kinetic differentiation mode reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorometric detection using 2-(2'-hydroxyphenyl)-10-hydroxybenzo[h]quinoline as precolumn chelating reagent». *Analytical chemistry*, vol. 75, p. 413-419.

McCleskey, T. Mark, Deborah S. Ehler, Kevin D. John, Anthony K. Burrell, Gavin E. Collins, Edel M. Minogue et Benjamin P. Warner. 2006. «Quantitative method of determining beryllium or a compound thereof in a sample». *US Patent* n° 7129093B2.

Minogue, Edel M., Deborah S. Ehler, Anthony K. Burrell, T. Mark McCleskey et Tammy P. Taylor. 2005. «Developpement of a new fluorescence method for the detection of beryllium on surface». *Journal of ASTM international*, vol. 2, p. 92-101.

National institute for occupational safety and health (NIOSH). 1994. «Beryllium and compounds, as Be (7102)». *NIOSH manual of analytical methods*, 4^e edition, 3 p.

National institute for occupational safety and health (NIOSH). 2007a. «Elements by ICP (nitric/perchloric acid ashing) (7300)». *NIOSH manual of analytical methods*, 4^e edition, 8 p.

National institute for occupational safety and health (NIOSH). 2007b. «Beryllium in surface wipes by field-portable fluorometry (9110)». *NIOSH manual of analytical methods*, 5^e edition, 6 p.

National institute for occupational safety and health (NIOSH). 2007c. «Beryllium in air by field-portable fluorometry (7704)». *NIOSH manual of analytical methods*, 5^e edition, 6 p.

Newman, Lee S., Jenifer Lloyd et Elaine Daniloff. 1996. «The natural history of beryllium sensitization and chronic beryllium disease». *Environmental health perspectives*, vol. 104, p.937-943.

Newman, Lee S., Margaret M Mroz, Ronald Balkissoon et Lisa A. Maier. 2005. «Beryllium sensitization progresses to chronic beryllium disease». *American journal of respiratory and critical care medicine*, vol. 171, p. 54-60.

Occupational safety and health administration (OSHA). 2002. «Metal and metalloid particulates in workplace atmospheres (ICP analysis) (ID125G)» *OSHA sampling and analytical methods*, 46 p.

O'Reilly, J.E. 1975. «Fluorescence experiments with quinine». *Journal of chemical education*, vol. 52, no. 9, p. 610-612.

Pal, Bijoli K. et Kalyan Baksi. 1992. «Chromotropic acid as fluorogenic reagent. I. Fluorimetric determination of beryllium». *Microchimica acta*, vol. 108, p. 275-283.

Paquette, Vincent. 2008. «Développement, validation et application de méthodes d'analyse d'ultra-trace du béryllium dans des matrices biologiques». Mémoire de maîtrise, Montréal, Université du Québec à Montréal, 121 p.

Patnaik, Pradyot. 2004. *Dean's analytical chemistry handbook*. 2^e édition, New York: McGraw-Hill, 1280 p.

Paustenbach, Dennis J., Amy K. Madl et Jessica F. Greene. 2001. «Identifying an appropriate occupational exposure limit (OEL) for beryllium : Data gaps and current research initiatives». *Applied occupational and environmental hygiene*, vol. 16, no. 5, p. 527-538.

Québec, Commission de la santé et de la sécurité au travail (CSST). 2007. *Règlement sur la santé et la sécurité du travail (RSST)*. L.R.Q. c. S-2.1, r.19.01 Québec: Éditeur officiel du Québec.

Répertoire toxicologique (RepTox). 2008. Béryllium [7440-41-7]. Service du répertoire toxicologique de la CSST, www.reptox.csst.qc.ca, visité le 14 janvier 2009.

Roberts, E.L., P.T. Chou, T.A. Alexander, R.A. Agbaria et I.M. Warner. 1995. «Effects of organized media on the excited-state intramolecular proton transfer of 10-hydroxybenzo[h]quinoline». *Journal of physical chemistry*, vol. 99, p. 5431-5437.

Schmidbaur, Hubert. 2001. «Recent contributions to the aqueous coordination chemistry of beryllium». *Coordination chemistry reviews*, vol. 215, p. 223-242.

Silverstein, Robert M. et Francis X. Webster. 2007. *Identification spectrométrique de composés organiques*. 2^e édition Trad. de l'anglais par David J. Kiemle. Bruxelles: de Boeck, 502 p.

Skoog, Douglas A., F. James Holler et Timothy A. Nieman. 2003. *Principes d'analyse instrumentale*. 5^e édition, trad. de l'anglais par Claudine Buess-Herman et Freddy Dumont. Bruxelles : de Boeck, 956 p.

Socrates, Georges. 1994. *Infrared characteristic group frequencies : tables and charts*. 2^e édition. New York: John Wiley & Sons, 368 p.

Stefaniak, Aleksandr B., Christopher A. Brink, Robert M. Dickerson, Gregory A. Day, Michael J. Brisson, Mark D. Hoover et Ronald C. Scripsick. 2007. «A theoretical framework for evaluating analytical digestion methods for poorly soluble particulate beryllium». *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 387, p. 2411-2417.

Sutton, Mark. et Stephen R. Burastero. 2003. «Beryllium chemical speciation in elemental human biological fluid ». *Chemical research in toxicology*, vol. 16, no 9, p. 1145-1154.

Sytnik, Aleksandr et Michael Kasha. 1994. «Excited-state intramolecular proton transfer as a fluorescence probe protein binding-site static polarity». *Proceedings of the national academy of sciences*, vol. 91, p. 8627-8630.

Sytnik, Aleksandr et Juan C. del Valle. 1995. «Steady-state and time-resolved study of the proton-transfer fluorescence of 4-hydroxy-5-azaphenanthrene in model solvents and in complexes with human serum albumin». *Journal of physical chemistry*, vol. 99, p. 13028-13032.

Thomas, Robert. 2004. *Practical guide to ICP-MS*. New York: Marcel Dekker Inc, 324 p.

Tinkle, Sally S., James M. Antonini, Brenda A. Rich, Jenny R. Roberts, Rebecca Salmen, Karyn DePree et Eric J. Adkins. 2003. «Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease». *Environmental health perspectives*, vol. 111, p. 1202-1208.

U.S. Department of Health and Human Services. 1999. *Report on carcinogens: Background document for beryllium and beryllium compounds*. Report on carcinogens subcommittee, Research Triangle Park, North Carolina, 74 p.

Valeur, Bernard. (2004). *Invitation à la fluorescence moléculaire*. Bruxelles: de Boeck, 201 p.

Viau, Stéphanie, Chantal Dion, Guy Perrault, André Dufresne, Valérie Turcotte, Hooman Golshahi, Bethany Campbell, Teodor Mocanu, Annie Ouellet et Pierre-Jean Désormeaux. 2009. «Nettoyage et décontamination des lieux de travail où il y a présence de béryllium : Techniques et solutions nettoyantes». Rapport de recherche R613, IRSST, Québec, 76 p.

World health organization (WHO). 1990. *Beryllium*. Environmental health criteria 106, 145 p.

World health organization (WHO). 2001. *Beryllium and beryllium compounds*. Genève : Concise international chemical assessment document 32, 72 p.

Yoshida, Hiroyuki, Takushi Ito et Akira Murata. 1990. «Fluorimetric determination of beryllium with 4-methyl-6-acetyl-7-hydroxycoumarin». *Fresenius journal of analytical chemistry*, vol. 338, p. 738-740.